

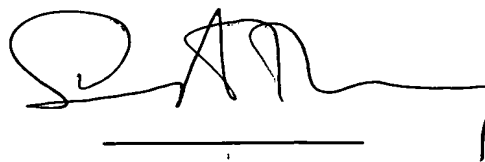
UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

#14
Linda
3/3/04

I, Susan ANTHONY BA, ACIS,

Director of RWS Group plc, of Europa House, Marsham Way, Gerrards Cross, Buckinghamshire, England declare;

1. That I am a citizen of the United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland.
2. That the translator responsible for the attached translation is well acquainted with the German and English languages.
3. That the attached is, to the best of RWS Group plc knowledge and belief, a true translation into the English language of the accompanying copy of the specification filed with the application for a patent in Germany on 12 May 1999 under the number 199 21 887.0 and the official certificate attached hereto.
4. That I believe that all statements made herein of my own knowledge are true and that all statements made on information and belief are true; and further that these statements were made with the knowledge that willful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both, under Section 1001 of Title 18 of the United States Code and that such willful false statements may jeopardize the validity of the patent application in the United States of America or any patent issuing thereon.



For and on behalf of RWS Group plc
The 16th day of January 2004

FEDERAL REPUBLIC OF GERMANY

Certificate

Bayer Aktiengesellschaft

of

Leverkusen/Germany

have filed a Patent Application under the title:

"Endoparasiticial compositions"

on 12 May 1999 at the German Patent and Trademark Office.

The attached document is a correct and accurate reproduction of the original submission for this Patent Application.

The German Patent and Trademark Office has for the time being given the Application the symbol A 01 N 38/15 of the International Patent Classification.

Munich, 10 April 2000

German Patent and Trademark Office

The President

pp

Agurks

File No: 199 21 887.0

Endoparasiticial compositions

5 The present invention relates to the use of piperazines for increasing the endoparasiticial action of cyclic depsipeptides in endoparasiticial compositions.

Piperazines and their action against endoparasites are generally known. (Mehlhorn et al., Diagnostik und Therapie der Parasitosen des Menschen [Diagnosis and Therapy of Human Parasitoses], 2nd Edition, Gustav Fischer Verlag, (1995),
10 Mehlhorn et al., Diagnostik und Therapie der Parasitosen von Haus-, Nutz- und Heimtieren [Diagnosis and Therapy of Parasitoses of Domestic, Agricultural and Pet Animals], 2nd Edition, Gustav Fischer Verlag, (1993)).

15 A cyclic depsipeptide PF 1022 and its action against endoparasites is disclosed in EP-OS (German Published Specification) 382 173.

Further cyclic depsipeptides and their endoparasiticial action are the subject of EP-OS (German Published Specification) 0 626 375, EP-OS (German Published Specification) 0 626 376 and WO 93/25543.

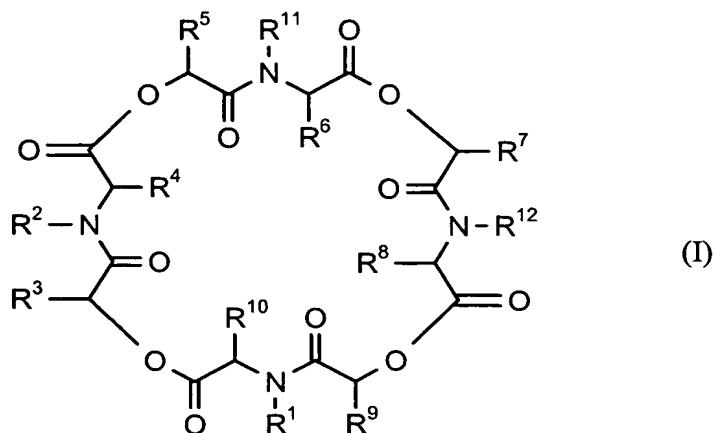
20

The present invention relates to the use of piperazines for increasing the endoparasiticial action of cyclic depsipeptides consisting of amino acids and hydroxycarboxylic acids as ring units and [lacuna] 24 ring atoms.

25 The present invention further relates to endoparasiticial compositions which contain piperazines together with cyclic depsipeptides consisting of amino acids and hydroxycarboxylic acids as ring units and [lacuna] 24 ring atoms.

30 The present invention further relates to the use of piperazines together with cyclic depsipeptides consisting of amino acids and hydroxycarboxylic acids as ring units and [lacuna] 24 ring atoms for the production of endoparasiticial compositions.

The cyclic depsipeptides having 24 ring atoms include compounds of the general formula (I)



in which

5

R^1 , R^2 , R^{11} and R^{12} independently of one another represent C_{1-8} -alkyl, C_{1-8} -halogenoalkyl, C_{3-6} -cycloalkyl, aralkyl, aryl,

10

R^3 , R^5 , R^7 , R^9 independently of one another represents hydrogen or straight-chain or branched C_{1-8} -alkyl, which can optionally be substituted by hydroxyl,

C_{1-4} -alkoxy, carboxyl, $\begin{smallmatrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{(-COH)} \end{smallmatrix}$, carboxamide, $\begin{smallmatrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{(-O-C-NH}_2\text{)} \end{smallmatrix}$, imidazolyl, indolyl,

15

guanidino, -SH or C_{1-4} -alkylthio and further represents aryl or aralkyl which can be substituted by halogen, hydroxyl, C_{1-4} -alkyl, C_{1-4} -alkoxy,

20

R^4 , R^6 , R^8 , R^{10} independently of one another represent hydrogen, straight-chain C_{1-5} -alkyl, C_{2-6} -alkenyl, C_{3-7} -cycloalkyl, each of which can optionally be substituted by hydroxyl, C_{1-4} -alkoxy, carboxyl, carboxamide, imidazolyl, indolyl, guanidino, SH or C_{1-4} -alkylthio, and represent aryl or aralkyl which can be substituted by halogen, hydroxyl, C_{1-4} -alkyl, C_{1-4} -alkoxy,

and their optical isomers and racemates.

Preferably, compounds of the formula (I) are employed in which

5 R^1 , R^2 , R^{11} and R^{12} independently of one another represent methyl, ethyl, propyl, isopropyl, n-, s-, t-butyl or phenyl, which is optionally substituted by halogen, C_{1-4} -alkyl, OH, C_{1-4} -alkoxy, and also represent benzyl or phenylethyl, each of which can optionally be substituted by the radicals indicated in the case of phenyl, and

10 R^3 to R^{10} have the meaning indicated above.

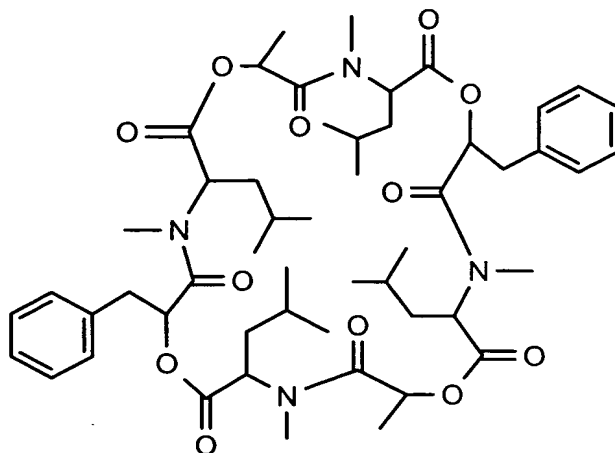
Particularly preferred compounds of the formula (I) are those in which

15 R^1 , R^2 , R^{11} and R^{12} independently of one another represent methyl, ethyl, propyl, isopropyl or n-, s-, t-butyl,

20 R^3 , R^5 , R^7 , R^9 represent hydrogen, straight-chain or branched C_{1-8} -alkyl, in particular methyl, ethyl, propyl, i-propyl, n-, s-, t-butyl, each of which can optionally be substituted by C_{1-4} -alkoxy, in particular methoxy, ethoxy, imidazolyl, indolyl or C_{1-4} -alkylthio, in particular methylthio, ethylthio, and further represent phenyl, benzyl or phenethyl, each of which can optionally be substituted by halogen, in particular chlorine, and

25 R^4 , R^6 , R^8 , R^{10} independently of one another represent hydrogen, methyl, ethyl, n-propyl, n-butyl, vinyl, cyclohexyl, each of which can optionally be substituted by methoxy, ethoxy, imidazolyl, indolyl, methylthio, ethylthio, and represent isopropyl, s-butyl and further represent optionally halogen-substituted phenyl, benzyl or phenylethyl.

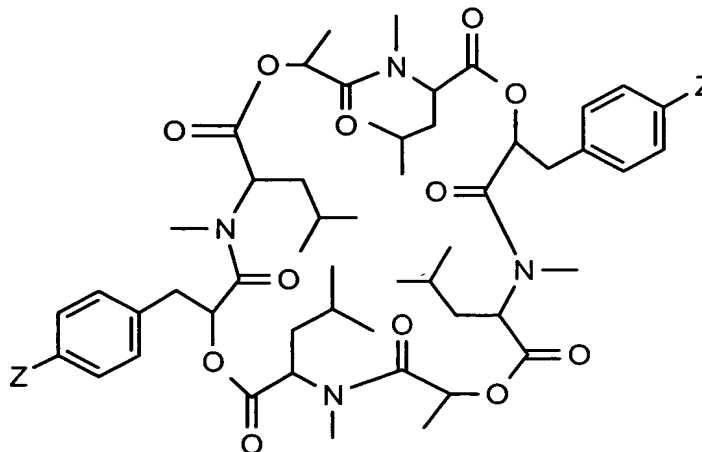
30 Furthermore, the compound PF 1022 of the following formula disclosed in EP-OS (German Published Specification) 382 173 may be mentioned as a 24 ring-membered depsipeptide:



Moreover, the compounds disclosed in the PCT application WO 93/19053 may be mentioned as depsipeptides.

5

In particular, the compounds of the following formula may be mentioned from PCT application WO 93/19053:



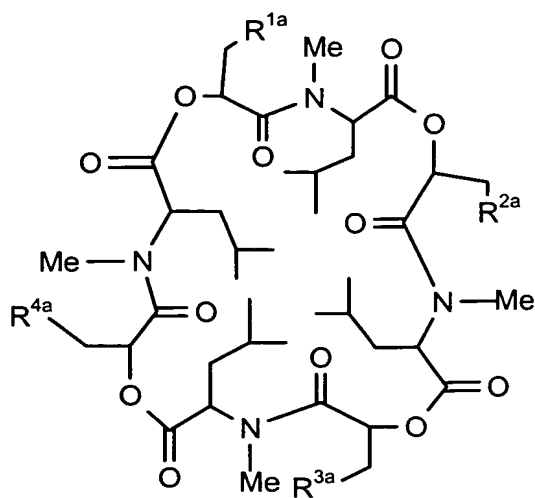
10

in which

Z represents N-morpholinyl, nitro, amino, mono- or dimethylamino, particularly emphatically N-morpholinyl.

15

Moreover, compounds of the following formula may be mentioned:

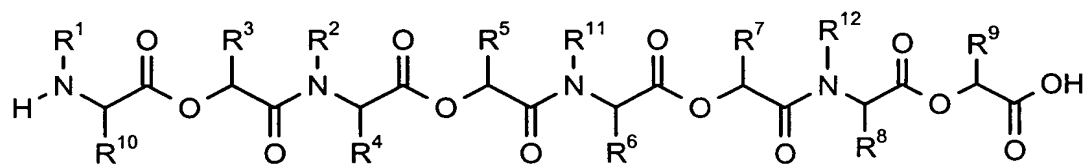


in which

5 R^{1a} , R^{2a} , R^{3a} , R^{4a} independently of one another represent hydrogen, C_1 - C_{10} -alkyl or aryl, in particular phenyl, each of which is optionally substituted by hydroxyl, C_1 - C_{10} -alkoxy or halogen.

The compounds of the formula (I) can be prepared by cyclizing open-chain octadepsipeptides of the formula (II)

10



(II)

in which

15

R^1 to R^{12} have the meaning indicated above,

in the presence of a diluent and in the presence of a coupling reagent.

20

Suitable coupling reagents are all compounds which are suitable for the formation of an amide bond (cf., for example: Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie

[Methods of Organic Chemistry], Volume 15/2; Bodanszky et al., Peptide Synthesis 2nd ed. (Wiley / Sons, New York 1976).

5 The following reagents and methods are preferably suitable: active ester method using pentafluorophenol (Pfp), N-hydroxysuccinimide, 1-hydroxybenzotriazole, coupling using carbodiimides, such as dicyclohexylcarbodiimide or N'-(3-dimethylaminopropyl)-N-ethyl-carbodiimide (Ebc), and the mixed anhydride method or coupling using phosphonium reagents, such as benzotriazol-1-yl-oxy-tris(dimethylaminophosphonium) hexafluorophosphate (BOP), bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)-
10 phosphinic chloride (BOP-Cl), or using phosphonic acid ester reagents, such as diethyl cyanophosphonate (DEPC) and diphenylphospharyl azide (DPPA).

Coupling using bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)-phosphonium acid chloride (BOP-Cl) and N'-(3-dimethylaminopropyl)-N-ethylcarbodiimide (EDC) in the presence of 1-
15 hydroxybenzotriazole (HOBt) is particularly preferred.

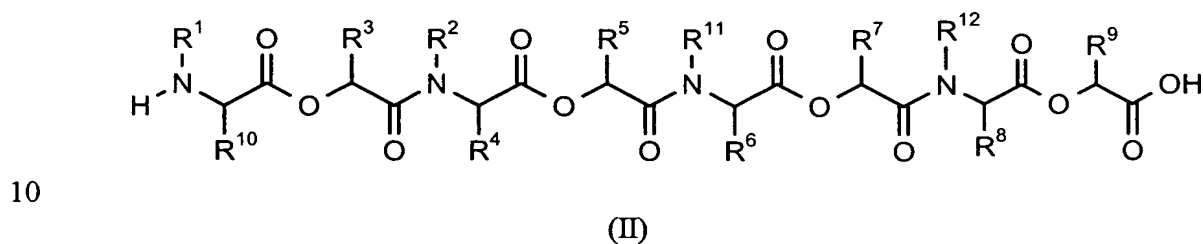
The reaction is carried out at temperatures from 0 – 150°C, preferably at 20 to 100°C, particularly preferably at room temperature.

20 Suitable diluents are all inert organic solvents. These include, in particular, aliphatic and aromatic, optionally halogenated hydrocarbons, such as pentane, hexane, heptane, cyclohexane, petroleum ether, benzine, ligroin, benzene, toluene, methylene chloride, ethylene chloride, chloroform, carbon tetrachloride, chlorobenzene and o-dichlorobenzene, furthermore ethers such as diethyl and dibutyl ether, glycol
25 dimethyl ether and diglycol dimethyl ether, tetrahydrofuran and dioxane, furthermore ketones, such as acetone, methyl ethyl ketone, methyl isopropyl ketone and methyl isobutyl ketone, moreover esters, such as methyl acetate and ethyl acetate, furthermore nitriles, e.g. acetonitrile and propionitrile, benzonitrile, glutaronitrile, moreover amides, e.g. dimethylformamide, dimethylacetamide and N-methylpyrrolidone, and
30 also dimethyl sulfoxide, tetramethylene sulfone and hexamethylphosphoramide.

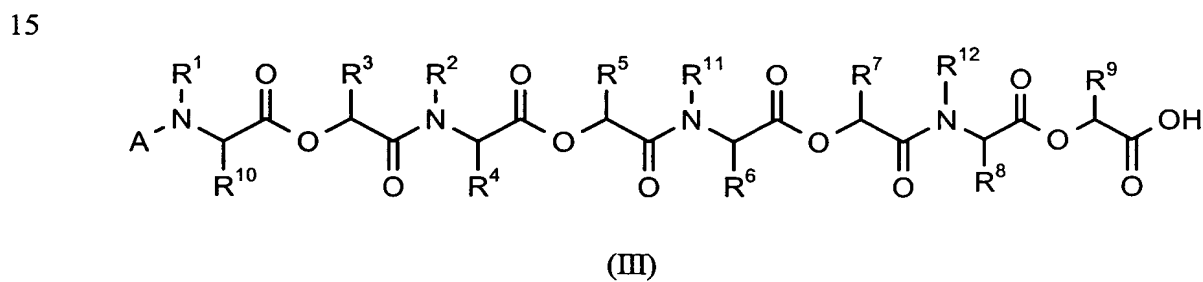
The compounds of the formulae (II) and the coupling reagents are employed in the ratio 1:1 to 1:1.5 to one another. An approximately equimolar ratio is preferred.

5 After the reaction has taken place, the diluent is distilled off and the compounds of the formula (I) are purified in a customary manner, e.g. by chromatography.

The open-chain octadepsipeptides of the formula (II)



in which the radicals have the meanings indicated above are obtained by hydrogenolyzing compounds of the formula (III)



20 in which

A [lacuna] benzyl and

R¹ to R¹² have the meaning indicated above,

25

in the presence of a diluent and of a catalyst.

The compounds of the formula (III)



hydrolyzing compounds of the formula (IV)



15

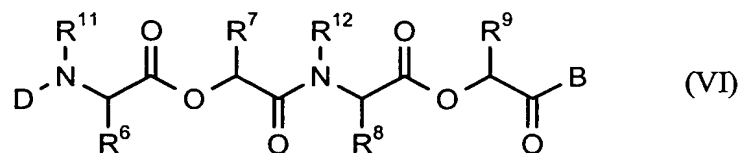
20



A represents benzyl and

R^1, R^2, R^3, R^4, R^5 and R^{10} have the meaning indicated above

and tetradepsipeptides of the formula (VI)



in which

5

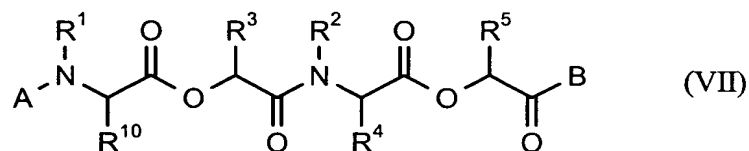
D represents hydrogen and

B represents tert-butoxy, and

10 $\text{R}^6, \text{R}^7, \text{R}^8, \text{R}^9, \text{R}^{11}$ and R^{12} have the meaning indicated above,

in the presence of a diluent and of a coupling reagent.

15 Tetradepsipeptides of the formula (V) are obtained by saponifying tetradepsipeptides of the formula (VII)



in which

20 A represents benzyl and

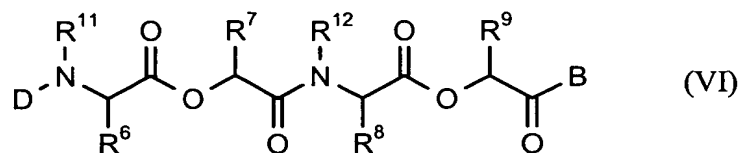
B represents tert-butoxy, and

$\text{R}^1, \text{R}^2, \text{R}^3, \text{R}^4, \text{R}^5$ and R^{10} have the meaning indicated above,

25

in the presence of a diluent and of a protonic acid.

Tetradepsipeptides of the formula (VI)



in which

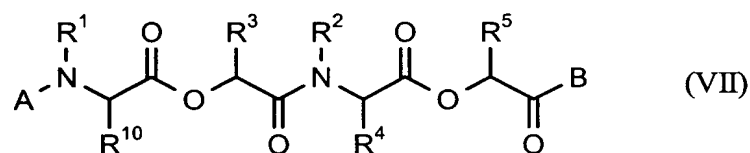
5

D represents hydrogen and

B represents tert-butoxy and the other radicals have the meaning indicated above,

10

are obtained by hydrogenolyzing tetradepsipeptides of the formula (VII)



in which

15

A represents benzyl and

B represents tert-butoxy, and

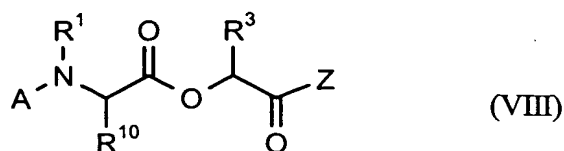
20

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 and R^{10} have the meaning indicated above,

in the presence of a diluent and of a catalyst.

Tetradepsipeptides of the formula (VII) are obtained by condensing dipeptides of the formula (VIII)

25



in which

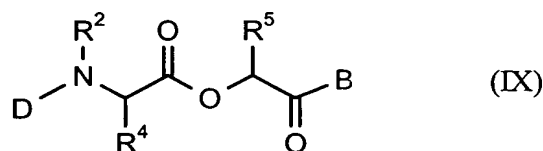
A represents benzyl and

5

Z represents OH, and

R¹, R³ and R¹⁰ have the meaning indicated above and

10 dipeptides of the formula (IX)



in which

15 D represents hydrogen and

B represents tert-butoxy, and

R², R⁴ and R⁵ have the meaning indicated above,

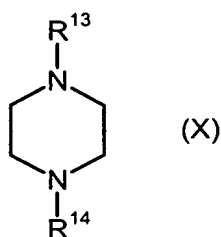
20

in a diluent in the presence of a coupling reagent.

The depsipeptides disclosed in WO 93/19 053 or in EP-OS (German Published Specification) 382 173 can be contained by the methods described there.

25

The piperazines include all compounds of the formula (X)



in which

5 R^{13} and R^{14} independently of one another represent identical or different substituents of the group hydrogen, in each case optionally substituted alkyl, cycloalkyl, aryl, heteroaryl, and $-\text{CONR}^{15}\text{R}^{16}$ or $-\text{CSNR}^{15}\text{R}^{16}$, in which

10 R^{15} and R^{16} independently of one another represent identical or different substituents of the group hydrogen, in each case optionally substituted alkyl or cycloalkyl.

Preferred compounds of the formula (X) are those in which

15 R^{13} and R^{14} independently of one another represent identical or different substituents of the group hydrogen, in each case optionally substituted $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-alkyl}$, $\text{C}_3\text{-C}_8\text{-cycloalkyl}$, and $-\text{CONR}^{15}\text{R}^{16}$ or $-\text{CSNR}^{15}\text{R}^{16}$, in which

20 R^{15} and R^{16} independently of one another represent identical or different substituents of the group hydrogen, in each case optionally substituted $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-alkyl}$ or $\text{C}_3\text{-C}_8\text{-cycloalkyl}$.

Particularly preferred compounds of the formula (X) are those in which

25 R^{13} and R^{14} independently of one another represent identical or different substituents of the group hydrogen, in each case optionally

substituted C₁-C₄-alkyl, C₆-cycloalkyl, and -CONR¹⁵R¹⁶ or -CSNR¹⁵R¹⁶, in which

5 R¹⁵ and R¹⁶ independently of one another represent identical or different substituents of the group hydrogen, in each case optionally substituted C₁-C₄-alkyl or C₆-cycloalkyl.

Very particularly preferred compounds of the formula (X) are those in which

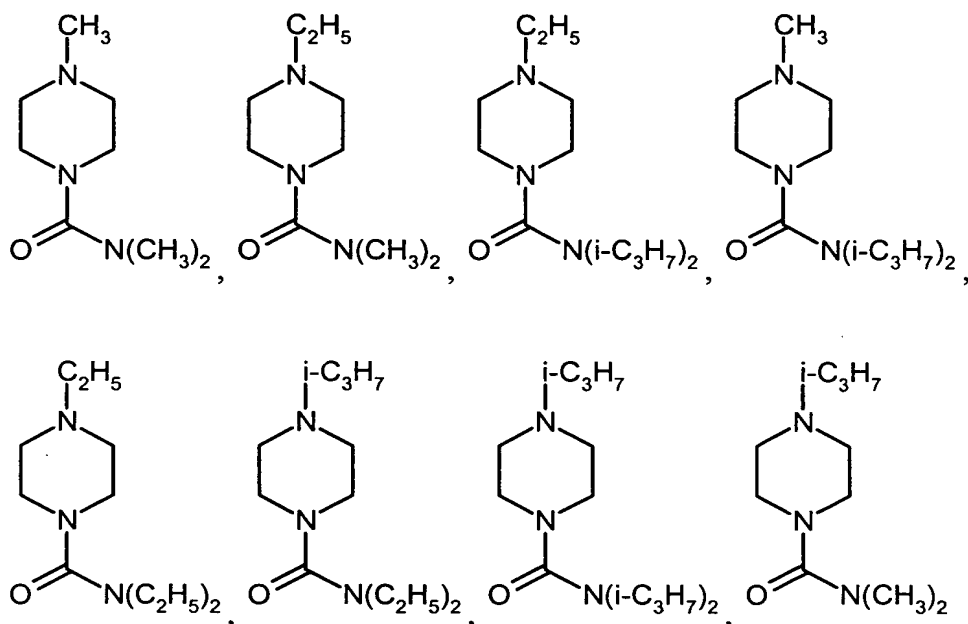
10 R¹³ and R¹⁴ independently of one another represent identical or different substituents of the group hydrogen, C₁-C₄-alkyl, C₁-C₄-haloalkyl having 1 to 9 identical or different halogen atoms of the series F, Cl, or Br, C₆-cycloalkyl, and -CONR¹⁵R¹⁶ or -CSNR¹⁵R¹⁶, in which

15 R¹⁵ and R¹⁶ independently of one another represent identical or different substituents of the group hydrogen, C₁-C₄-alkyl or C₆-cycloalkyl.

20 The following compounds may be mentioned by way of example, but not restrictively:

piperazine, diethylcarbazine, N,N'-dimethylpiperazine, N-methylpiperazine, N,N'-diethylpiperazine, N-ethylpiperazine, N-ethyl-N'-methylpiperazine, N,N'-dipropylpiperazine, N-propylpiperazine, N-ethyl-N'-propylpiperazine, N-methyl-N'-propylpiperazine, N-cyclohexylpiperazine, N,N'-dicyclohexylpiperazine,

25



5 piperazine and diethylcarbamazine may be especially emphasized here.

The piperazines are generally known organic compounds and are commercially obtainable or can be obtained by known methods. (Mehlhorn et al. Diagnostik und Therapie der Parasitosen des Menschen 2nd Edition, Gustav Fischer (1995),
 10 Mehlhorn et al. Diagnostik und Therapie der Parasitosen von Haus-, Nutz- und Heimtieren, 2nd Edition Gustav Fischer (1993)).

The compositions according to the invention are suitable for controlling pathogenic endoparasites which occur in humans and in animal keeping and animal breeding in the case of agricultural animals, breeding animals, zoo animals, laboratory animals,
 15 experimental animals and pets and have favorable toxicity to warm-blooded animals. They are effective against all or individual stages of development of the pests and also against resistant and normally sensitive species. As a result of the control of the pathogenic endoparasites, disease, cases of death and yield reductions (e.g. in the
 20 production of meat, milk, wool, hides, eggs, honey etc.) should be reduced, so that more economical and simpler animal keeping is possible as a result of the use of the active compounds. The pathogenic endoparasites include cestodes, trematodes, nematodes, acantocephalae, in particular:

From the order of the Pseudophyllidea e.g.: Diphylobothrium spp., Spirometra spp., Schistocephalus spp., Ligula spp., Bothridium spp., Diphlogonoporus spp.

5 From the order of the Cyclophyllidea e.g.: Mesocostoides spp., Anoplocephala spp., Paranoplocephala spp., Moniezia spp., Thysanosomus spp., Thysaniezia spp., Avitellina spp., Stilesia spp., Cittotaenia spp., Andrya spp., Bertiella spp., Taenia spp., Echinococcus spp., Hydatigera spp., Davainea spp., Raillietina spp., Hymenolepis spp., Echinolepis spp., Echinocotyle spp., Diorchis spp., Dipylidium spp., Joyeuxiella spp., Diplopylidium spp.

10

From the subclass of the Monogenea e.g.: Gyrodactylus spp., Dactylogyrus spp., Polystoma spp.

15 From the subclass of the Digenea e.g.: Diplostomum spp., Posthodiplostomum spp., Schistosoma spp., Trichobilharzia spp., Ornithobilharzia spp., Austrotrichobilharzia spp., Gigantobilharzia spp., Leucochloridium spp., Brachylaima spp., Echinostoma spp., Echinoparyphium spp., Echinochasmus spp., Hypoderaeum spp., Fasciola spp., Fasciolides spp., Fasciolopsis spp., Cyclocoelum spp., Typhlocoelum spp., Paramphistomum spp., Calicophoron spp., Cotylophoron spp., Gigantocotyle spp.,
20 Fiscoederius spp., Gastrothylacus spp., Notocotylus spp., Catatropis spp., Plagiorchis spp., Prosthogonimus spp., Dicrocoelium spp., Eurytrema spp., Troglotrema spp., Paragonimus spp., Collyriclum spp., Nanophyetus spp., Opisthorchis spp., Clonorchis spp., Metorchis spp., Heterophyes spp., Metagonimus spp.

25 From the order of the Enoplida e.g.: Trichuris spp., Capillaria spp., Trichomosoides spp., Trichinella spp.

From the order of Rhabditia e.g.: Micronema spp., Strongyloides spp.

30 From the order of Strongylida e.g.: Strongylus spp., Triodontophorus spp., Oesophagodontus spp., Trichonema spp., Gyallocephalus spp., Cylandropharynx spp., Poterostomum spp., Cyclococercus spp., Cylicostephanus spp., Oesophagostomum

spp., Chabertia spp., Stephanurus spp., Ancylostoma spp., Uncinaria spp., Bunostomum spp.

5 Globocephalus spp., Syngamus spp., Cyathostomum spp., Metastrongylus spp.,
Dictyocaulus spp., Muellerius spp., Protostrongylus spp., Neostrongylus spp.,
Cystocaulus spp., Pneumostomum spp., Spicocaulus spp., Elaphostrongylus spp.,
Parelaphostrongylus spp., Crenosoma spp., Paracrenosoma spp., Angiostrongylus
spp., Aelurostrongylus spp., Filaroides spp., Parastrongylus spp., Trichostrongylus
spp., Haemonchus spp., Ostertagia spp., Marshallagia spp., Cooperia spp.,
10 Nematodirus spp., Hyostrongylus spp., Obeliscoides spp., Amidostomum spp.,
Ollulanus spp., Cylicocyclus spp., Cratichneumon spp., Cylicodontophorus spp.

From the order of the Oxyurida e.g.: Oxyuris spp., Enterobius spp., Passalurus spp.,
Syphacia spp., Aspiculuris spp., Heterakis spp.

15 From the order of the Ascaridia e.g.: Ascaris spp., Toxascaris spp., Toxocara spp.,
Parascaris spp., Anisakis spp., Ascaridia spp.

From the order of the Spirurida e.g.: Gnathostoma spp., Physaloptera spp., Thelazia
20 spp., Gongylonema spp., Habronema spp., Parabronema spp., Draschia spp.,
Dracunculus spp.

From the order of the Filariida e.g.: Stephanofilaria spp., Parafilaria spp., Setaria spp.,
Loa spp., Dirofilaria spp., Litomosoides spp., Brugia spp., Wuchereria spp.,
25 Onchocerca spp.

From the order of the Gigantorhynchida e.g.: Filicollis spp., Moniliformis spp.,
Macracanthorhynchus spp., Prostheneurhynchus spp.

30 The agricultural and breeding animals include mammals such as cattle, horses, sheep,
pigs, goats, camels, water buffalo, donkeys, rabbits, fallow deer, reindeer, fur-bearing
animals such as mink, chinchilla, racoon, birds such as chickens, geese, turkeys,

ducks ostriches, freshwater and saltwater fish such as trout, carps, eels, reptiles, insects such as honeybees and silkworms.

5 The laboratory and experimental animals include mice, rats, guinea-pigs, golden hamsters, dogs and cats.

The pets include dogs and cats.

10 Administration can be carried out both prophylactically and therapeutically.

The active compound mixtures are administered directly or enterally, parenterally, dermally, nasally in the form of suitable preparations, by treatment of the habitat or with the aid of active compound-containing molded articles such as strips, plates, tapes, collars, ear tags, limb bands, marking devices.

15 Enteral administration of the active compound mixtures is carried out, for example, orally in the form of powders, tablets, capsules, pastes, drinks, granules, orally administrable solutions, suspensions and emulsions, boli, medicated feed or drinking water. Dermal administration is carried out, for example, in the form of dipping, spraying or pouring-on and spotting-on. Parenteral administration is carried out, for
20 example, in the form of injection (intramuscular, subcutaneous, intravenous, intraperitoneal) or by implants.

Suitable preparations are:

25 Solutions such as injection solutions, oral solutions, concentrates for oral administration after dilution, solutions for use on the skin or in body cavities, pour-on formulations, gels;

30 Emulsions and suspensions for oral or dermal administration and also for injection; semi-solid preparations;

Formulations in which the active compound mixture is processed in an ointment base or in an oil-in-water or water-in-oil emulsion base;

5 Solid preparations such as powders, premixes or concentrates, granules, pellets, tablets, boli, capsules; aerosols and inhalants, active compound mixture-containing molded articles.

10 Injection solutions are administered intravenously, intramuscularly and subcutaneously.

Injection solutions are prepared by dissolving the active compound mixture in a suitable solvent and adding possible additives such as solubilizers, acids, bases, buffer salts, antioxidants, preservatives. The solutions are sterile-filtered and bottled.

15 Solvents which may be mentioned are: physiologically tolerable solvents such as water, alcohols such as ethanol, butanol, benzyl alcohol, glycerol, propylene glycol, polyethylene glycols, N-methyl-pyrrolidone, and mixtures thereof.

20 The active compound mixture can optionally also be dissolved in physiologically tolerable vegetable or synthetic oils which are suitable for injection.

25 Solubilizers which may be mentioned are: solvents which promote the dissolution of the active compound mixture in the main solvent or prevent its precipitation. Examples are polyvinylpyrrolidone, polyoxyethylated castor oil, polyoxyethylated sorbitan ester.

Preservatives are: benzyl alcohol, trichlorobutanol, p-hydroxybenzoic acid ester, n-butanol.

30 Oral solutions are administered directly. Concentrates are administered orally after prior dilution to the administration concentration. Oral solutions and concentrates are

prepared as described above in the case of the injection solutions, it being possible to dispense with working under sterile conditions.

5 Solutions for use on the skin are applied drop by drop, smoothed on, rubbed in, splashed on or sprayed on. These solutions are prepared as described above in the case of the injection solutions.

10 It may be advantageous to add thickeners during the preparation. Thickeners are: inorganic thickeners such as bentonites, colloidal silicic acid, aluminum monostearate, organic thickeners such as cellulose derivatives, polyvinyl alcohols and their copolymers, acrylates and metacrylates.

15 Gels are applied to the skin or smoothed on or introduced into body cavities. Gels are prepared by mixing solutions which have been prepared as described in the case of the injection solutions with sufficient thickener that a clear material having an ointment-like consistency results. The thickeners employed are those indicated further above.

20 Pour-on formulations are poured onto or splashed onto restricted areas of the skin, the active compound penetrating the skin and acting systemically.

25 Pour-on formulations are prepared by dissolving, suspending or emulsifying the active compound mixture in suitable skin-compatible solvents or solvent mixtures. If appropriate, further auxiliaries, such as colorants, absorption-promoting substances, antioxidants, light screens, tackifiers are added.

30 Solvents which may be mentioned are: water, alkanols, glycols, polyethylene glycols, polypropylene glycols, glycerol, aromatic alcohols such as benzyl alcohol, phenyl-ethanol, phenoxyethanol, esters such as ethyl acetate, butyl acetate, benzyl benzoate, ethers such as alkylene glycol alkyl ethers such as dipropylene glycol monomethyl ether, diethylene glycol mono-butyl ether, ketones such as acetone, methyl ethyl ketone, aromatic and/or aliphatic hydrocarbons, vegetable or synthetic oils, DMF,

dimethylacetamide, N-methylpyrrolidone, 2,2-dimethyl-4-oxy-methylene-1,3-dioxolane.

5 Colorants are all colorants, which can be dissolved or suspended, permitted for use on animals.

Absorption-promoting substances are, for example, DMSO, spreading oils such as isopropyl myristate, dipropylene glycol pelargonate, silicone oils, fatty acid esters, triglycerides, fatty alcohols.

10 Antioxidants are sulfites or metabisulfites such as potassium metabisulfite, ascorbic acid, butylhydroxytoluene, butylhydroxyanisole, tocopherol.

Light screens are, for example, novantisolic acid.

15 Tackifiers are, for example, cellulose derivatives, starch derivatives, polyacrylates, natural polymers such as alginates, gelatin.

Emulsions can be administered orally, dermally or as injections.

20 Emulsions are either of the water-in-oil type or of the oil-in-water type.

They are prepared by dissolving the active compound mixture either in the hydrophobic or in the hydrophilic phase and homogenizing this with the solvent of
25 the other phase with the aid of suitable emulsifiers and, if appropriate, further auxiliaries such as colorants, absorption-promoting substances, preservatives, antioxidants, light screens, viscosity-increasing substances.

Hydrophobic phases (oils) which may be mentioned are: paraffin oils, silicone oils,
30 natural vegetable oils such as sesame oil, almond oil, castor oil, synthetic triglycerides such as caprylic/capric biglyceride, triglyceride mixture with plant fatty acids of chain length C₈₋₁₂ or other specially selected natural fatty acids, partial

glyceride mixtures of saturated or unsaturated fatty acids which possibly also contain hydroxyl groups, mono- and diglycerides of the C_8/C_{10} fatty acids.

5 Fatty acid esters such as ethyl stearate, di-n-butyryl adipate, hexyl laurate, dipropylene glycol pelargonate, esters of a branched fatty acid of medium chain length with saturated fatty alcohols of chain length $C_{16}-C_{18}$, isopropyl myristate, isopropyl palmitate, caprylic/capric acid esters of saturated fatty alcohols of chain length $C_{12}-C_{18}$, isopropyl stearate, oleyl oleate, decyl oleate, ethyl oleate, ethyl lactate, waxy fatty acid esters such as artificial duck uropygial gland fat, dibutyl
10 phthalate, diisopropyl adipate, ester mixtures related to the latter etc.

Fatty alcohols such as isotridecyl alcohol, 2-octyldodecanol, cetylstearyl alcohol, oleyl alcohol.

15 Fatty acids such as oleic acid and its mixtures.

Hydrophilic phases which may be mentioned are:

20 Water, alcohols such as propylene glycol, glycerol, sorbitol and their mixtures.

Emulsifiers which may be mentioned are: nonionic surfactants, e.g. polyoxyethylated castor oil, polyoxyethylenated sorbitan monooleate, sorbitan monostearate, glyceryl monostearate, polyoxyethyl stearate, alkylphenol polyglycol ether;

25 ampholytic surfactants such as di-Na N-lauryl- β -iminodipropionate or lecithin;

anionic surfactants, such as Na laurylsulfate, fatty alcohol ether sulfates, mono/dialkyl polyglycol ether orthophosphoric acid ester monoethanolamine salt;

30 cationic surfactants such as cetyltrimethylammonium chloride.

Further auxiliaries which may be mentioned are: substances which increase viscosity and stabilize the emulsion such as carboxymethylcellulose, methylcellulose and other cellulose and starch derivatives, polyacrylates, alginates, gelatin, gum arabic, polyvinylpyrrolidone, polyvinyl alcohol, copolymers of methyl vinyl ether and maleic anhydride, polyethylene glycols, waxes, colloidal silicic acid or mixtures of the substances mentioned.

Suspensions can be administered orally, dermally or as an injection. They are prepared by suspending the active compound in a carrier liquid, if appropriate with addition of further auxiliaries such as wetting agents, colorants, absorption-promoting substances, preservatives, antioxidants light screens.

Carrier liquids which may be mentioned are all homogeneous solvents and solvent mixtures.

Wetting agents (dispersants) which may be mentioned are the surfactants indicated further above.

Further auxiliaries which may be mentioned are those indicated further above.

Semi-solid preparations can be administered orally or dermally. They differ from the suspensions and emulsions described above only by their higher viscosity.

For the production of solid preparations, the active compound is mixed with suitable carriers, if appropriate with addition of auxiliaries, and brought into the desired form.

Carriers which may be mentioned are all physiologically tolerable solid inert substances. Those which may be used are inorganic and organic substances. Inorganic substances are, for example, sodium chloride, carbonates such as calcium carbonate, hydrogencarbonates, aluminas, silicic acids, argillaceous earths, precipitated or colloidal silica, phosphates.

Organic substances are, for example, sugar, cellulose, foodstuffs and feedstuffs such as milk powder, animal meals, cereal meals and coarse cereal meals, starches.

5 Auxiliaries are preservatives, antioxidants and colorants which have already been mentioned further above.

Further suitable auxiliaries are lubricants and glidants such as magnesium stearate, stearic acid, talc, bentonites, disintegration-promoting substances such as starch or crosslinked polyvinylpyrrolidone, binders such as starch, gelatin or linear
10 polyvinylpyrrolidone, and dry binders such as microcrystalline cellulose.

In the preparations, the active compound mixtures can also be present as a mixture with further synergists or with other active compounds which act against pathogenic endoparasites. Such active compounds are, for example, L-2,3,5,6-tetrahydro-6-
15 phenyl-imidazothiazole, benzimidazole carbamates, pyrantel.

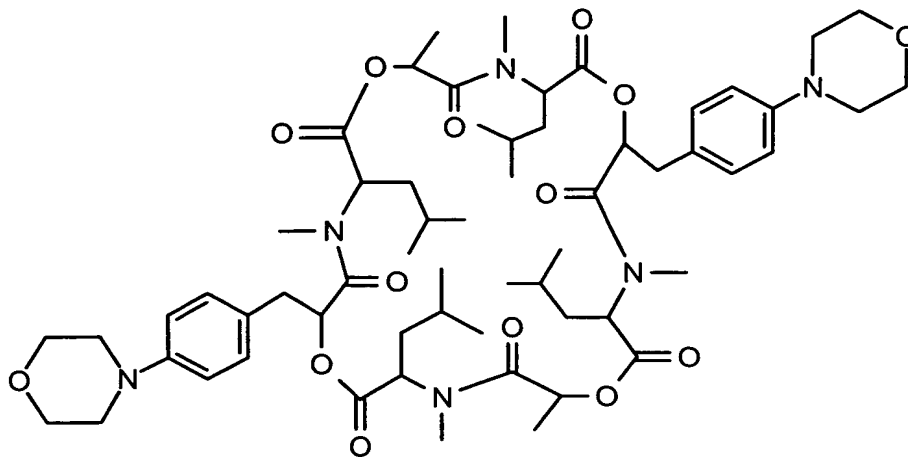
Ready-to-use preparations contain the active compound mixtures in concentrations of 10 ppm – 20% by weight, preferably of 0.1-10% by weight.

20 Preparations which are diluted before administration contain the active compound mixtures in concentrations of 0.5-90% by weight, preferably of 5 to 50 percent by weight.

In general, it has proven advantageous to administer amounts of the mixture according to the invention of approximately 10 to approximately 100 mg of active
25 compound mixture per kg of body weight per day to achieve effective results. 10 to 50 mg of active compound mixture per kg of body weight are preferred.

In general, a weight ratio of piperazine to depsipeptide such as 50:1 to 1000:1, preferably 100:1 to 1000:1, very particularly preferably 250:1 to 1000:1, in particular
30 250:1 and 1000:1, is adhered to in the compositions.

•



5

The biological tests were carried out according to the known procedures (Plant et al. Pesticide Science, 1996, 48, p. 351 ff.).

Biological examples**Table 1**

5 Synergistic effect of piperazine and depsipeptide I against *Trichinella spiralis* in vitro

| | Concentration (μ g/ml) | Action |
|---------------------------|--------------------------------|--------|
| Piperazine | 1000 | 0-1 |
| | 500 | 0 |
| Depsipeptide I | 0.01 | 0-1 |
| | 0.001 | 0 |
| Piperazine/depsipeptide I | 1000/0.01 | 1-2 |
| Piperazine/depsipeptide I | 500/0.01 | 1-2 |

0 = no action; 1 = weak action; 2 = good action

10 **Table 2**

Synergistic effect of piperazine and depsipeptide I against mouse nematodes

| Heterakis spumosa | Dose (mg/kg) | Action | Nematospir ides dibius | Dose (mg/kg) | Action |
|-------------------------------|-------------------|--------|---------------------------|--------------------|--------|
| Piperazine | 4 x 250 | 1 | Piperazine | 2 x 2000 | 2 |
| | 4 x 100 | 0 | | 4 x 1000 | 1 |
| Depsipeptide I | 4 x 1 | 1 | PF1022-221 | 4 x 1 | 2 |
| | 4 x 0.5 | 1 | | 4 x 0.5 | 0-2 |
| Piperazine/ depsipeptide I | 4 x 250/ 4 x 1 | 3 | Piperazine/ PF1022-221 | 2 x 2000/ 4 x 1 | 2-3 |
| | 4 x 100/ 4 x 1 | 2 | | 4 x 1000/ 4 x 1 | 2-3 |

0 = worm reduction <50 %; 1 = worm reduction 50-75 %; 2 = worm reduction 75-90 %; 3 = complete action, worm reduction >90 %

15

Preparation examples

Examples of the preparation of the cyclic depsipeptides having 24 ring atoms:

- 5 1. Preparation of the compounds of the formula (I).

10 BOP-Cl (0.124 mmol) was added at 0°C to a solution of the compound of the formula II (0.104 mmol) and Hünig's base (0.258 mmol) in dichloromethane (100 ml) and the mixture was stirred at room temperature for 24 h. After this time, the same amounts of BOP-Cl and base were added and the mixture was stirred for a further 24 h. The solution was washed twice with satd sodium hydrogencarbonate solution, dried over sodium sulfate and concentrated. The residue was purified by column chromatography using the eluent cyclohexane/ethyl acetate 2:1.

15

Compounds of the formula (I) were obtained in which the substituents have the following meaning (table 3):

Table 3

| No. | R ^{1a} | R ^{2a} | R ^{3a} | R ^{4a} | R ^{5a} | R ^{6a} | R ^{7a} | R ^{8a} | R ^{9a} | R ^{10a} | R ^{11a} | R ^{12a} | FAB-MS m/z (%) |
|-----|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|-------------------------------------------------------------------|
| 1 | Et | Et | Me | s-Bu | Bn | s-Bu | Me | s-Bu | Bn | s-Bu | Et | Et | |
| 2 | Propyl | Propyl | " | " | " | " | " | " | " | " | Propyl | Propyl | |
| 3 | i-Propyl | i-Propyl | " | " | " | " | " | " | " | " | i-Propyl | i-Propyl | |
| 4 | Me | Me | " | s-Bu | " | s-Bu | " | s-Bu | " | s-Bu | Me | Me | 948 (82, (+H) ⁺) |
| 5 | Me | Me | " | i-Pr | " | i-Pr | " | i-Pr | " | i-Pr | Me | Me | 915 (100, (M+Na) ⁺) 893 (55, (M+H) ⁺) |
| 6 | Me | Me | " | Bn | " | Bn | " | Bn | " | Bn | Me | Me | 1107 (100, (M+Na) ⁺) 1085 (8, (M+H) ⁺) |
| 7 | Me | Me | " | s-Bu | 2-Cl-Bn | s-Bu | " | s-Bu | 2-Cl-Bn | s-Bu | Me | Me | |
| 8 | Me | Me | " | " | 2-Cl-Bn | " | " | " | 3-Cl-Bn | " | Me | Me | |
| 9 | Me | Me | " | " | 4-Cl-Bn | " | " | " | 4-Cl-Bn | " | Me | Me | |
| 10 | Propyl | i-Propyl | " | " | -Bn | " | " | " | -Bn | " | Propyl | i-Propyl | |

Me = methyl

Et = ethyl

Bu = butyl

Pr = propyl

Bn = benzyl

Examples of the preparation of the compounds of the formula (II)

5 A solution of an open-chain octadepsipeptide of the formula (III) (1.222 mmol) in ethanol (50 ml) was hydrogenated in the presence of Pd(OH)₂/C (20%; 200 mg) until the absorption of hydrogen was complete (about 2 h). After filtering off the catalyst, pure compound of the formula II was obtained, which was reacted further without additional purification.

10 According to this procedure, compounds of the formula (II) were obtained in which the substituents have the meaning according to table 4.

Table 4

| No. | R ^{1a} | R ^{2a} | R ^{3a} | R ^{4a} | R ^{5a} | R ^{6a} | R ^{7a} | R ^{8a} | R ^{9a} | R ^{10a} | R ^{11a} | R ^{12a} |
|-----|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|
| 11 | Et | Et | Me | s-Bu | Bn | s-Bu | Me | s-Bu | Bn | s-Bu | Et | Et |
| 12 | Propyl | Propyl | " | " | " | " | " | " | " | " | Propyl | Propyl |
| 13 | i-Propyl | i-Propyl | " | " | " | " | " | " | " | " | i-Propyl | i-Propyl |
| 14 | Me | Me | " | " | " | " | " | " | " | " | Me | Me |
| 15 | Me | Me | " | i-Pr | " | i-Pr | " | i-Pr | " | i-Pr | Me | Me |
| 16 | M4 | Me | " | Bn | " | Bn | " | Bn | " | Bu | Me | Me |
| 17 | Me | Me | " | s-Bu | 2-Cl-Bn | s-Bu | " | s-Bu | 2-Cl-Bn | s-Bu | Me | Me |
| 18 | Me | Me | " | " | 3-Cl-Bn | " | " | " | 3-Cl-Bn | " | Me | Me |
| 19 | Me | Me | " | " | 4-Cl-Bn | " | " | " | 4-Cl-Bn | " | Me | Me |
| 20 | Propyl | i-Propyl | " | " | -Bn | " | " | " | -Bn | " | Propyl | i-Propyl |

Me = methyl

5 Et = ethyl

s-Bu = s-butyl

Bn = benzyl

Preparation of the compounds of the formula (III)

5 HCl gas was passed into a solution of the tert-butyl ester of the formula (IV) (1.609 mmol) in dichloromethane (40 ml) at 0°C for 1.5 h. The mixture was then warmed to room temperature and stirred for 12 h. The solution was concentrated in a rotary evaporator and dried in a high vacuum. The residue was reacted without further purification.

10 Analogously, compounds of the formula (III) were obtained in which the substituents have the following meaning (table 5):

Table 5

| No. | R ^{1a} | R ^{2a} | R ^{3a} | R ^{4a} | R ^{5a} | R ^{6a} | R ^{7a} | R ^{8a} | R ^{9a} | R ^{10a} | R ^{11a} | R ^{12a} | A |
|-----|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|----|
| 21 | Et | Et | Me | s-Bu | Bn | s-Bu | Me | s-Bu | Bn | s-Bu | Et | Et | Bn |
| 22 | Propyl | Propyl | " | " | " | " | " | " | " | " | Propyl | Propyl | " |
| 23 | i-Propyl | i-Propyl | " | " | " | " | " | " | " | " | i-Propyl | i-Propyl | " |
| 24 | Me | Me | " | " | " | " | " | " | " | " | Me | Me | " |
| 25 | Me | Me | " | i-Pr | " | i-Pr | " | i-Pr | " | i-Pr | Me | Me | " |
| 26 | M4 | Me | " | Bn | " | Bn | " | Bn | " | Bn | Me | Me | " |
| 27 | Me | Me | " | s-Bu | 2-Cl-Bn | s-Bu | " | s-Bu | 2-Cl-Bn | s-Bu | Me | Me | " |
| 28 | Me | Me | " | " | 2-Cl-Bn | " | " | " | 3-Cl-Bn | " | Me | Me | " |
| 29 | Me | Me | " | " | 4-Cl-Bn | " | " | " | 4-Cl-Bn | " | Me | Me | " |
| 30 | Propyl | i-Propyl | " | " | -Bn | " | " | " | -Bn | " | Propyl | i-Propyl | " |

Me = methyl

Et = ethyl

s-Bu = s-butyl

Bn = benzyl

Preparation of the compounds of the formula (IV)

A solution of ethyldiisopropylamine (0.912 mmol) and BOP-Cl (0.438 mmol) was added at 0°C to a solution of the tetradepsipeptides of the formula (VI) and (V) each (2.52 mmol) in dichloromethane (15 ml). The mixture was stirred at 0°C for 1 h and at room temperature for 1.5 h, diluted with 20 ml of dichloromethane, washed twice with a little water, dried over Na₂SO₄ and concentrated. The residue was purified on silica gel using the eluent cyclohexane/t-BuOMe = 2:1.

Preparation of the compounds of the formula (V)

HCl gas was passed at 0°C for 2 h into a solution of the tetradepsipeptide having the formula (VII) (2.848 mmol) in dichloromethane (50 ml).

The mixture was then stirred at room temperature for 8 h, concentrated and dried in a high vacuum. The residue was employed without further purification.

Preparation of the compounds of the formula (VI)

A solution of the tetradepsipeptide having the formula (VII) (9.53 mmol) in ethanol (37 ml) was treated with Pd(OH)₂/C (20%) (0.6 g) and hydrogenated at room temperature and normal pressure for about 3 h. The reaction mixture was filtered, concentrated and the residue was separated on silica gel using the eluent t-BuOMe/cyclohexane/ethanol = 1:1:0.5.

Preparation of the compounds of the formula (VII)

A solution of the didepsipeptide IX (22.9 mmol) and of the didepsipeptide VIIIa (27.5 mmol) in dichloromethane (80 ml) cooled to 0°C was treated with diisopropylethylamine (57.3 mmol) and BOP-Cl (29.8 mmol), stirred at 0°C for 1 h and at room temperature for 1 h. After filtering off the precipitate, the solution was diluted with dichloromethane, washed three times with a little water, dried over

sodium sulfate and concentrated. The residue was separated on silica gel using the eluent cyclohexane/ethyl acetate = 15:1.

Patent claims

1. The use of piperazines for increasing the endoparasiticial action of cyclic depsipeptides consisting of amino acids and hydroxycarboxylic acids as ring units and having 24 ring atoms.
2. An endoparasiticial composition which contains piperazines together with cyclic depsipeptides consisting of amino acids and hydroxycarboxylic acids as ring units and having 24 ring atoms.
3. The use of piperazines together with cyclic depsipeptides consisting of amino acids and hydroxycarboxylic acids as ring units and having 24 ring atoms for the production of endoparasiticial compositions.

Endoparasiticial compositions

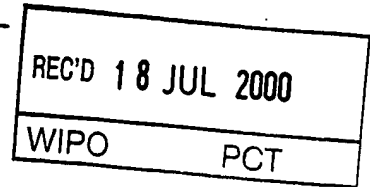
A b s t r a c t

The present invention relates to the use of piperazines for increasing the endoparasiticial action of cyclic depsipeptides, consisting of amino acids and hydroxycarboxylic acids as ring units and having 24 ring atoms, in endoparasiticial compositions.

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

10/009930

EP00/40164



4

Bescheinigung

Die Bayer Aktiengesellschaft in Leverkusen/Deutschland hat eine Patentanmeldung unter der Bezeichnung

"Endoparasitizide Mittel"

am 12. Mai 1999 beim Deutschen Patent- und Markenamt eingereicht.

Das angeheftete Stück ist eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlage dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patent- und Markenamt vorläufig das Symbol A 01 K 38/15 der Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 10. April 2000

Deutsches Patent- und Markenamt

Der Präsident

Im Auftrag

tenzeichen: 199 21 887.0

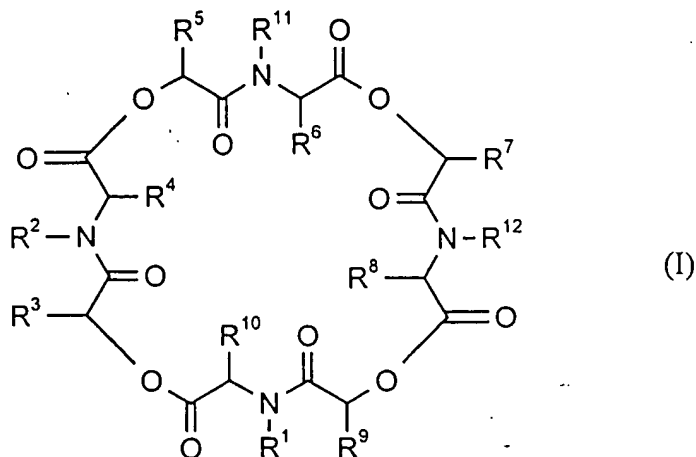


PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

Agurke

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ferner die Verwendung von Piperazinen zusammen mit cyclischen Depsipeptiden bestehend aus Aminosäuren und Hydroxycarbonsäuren als Ringbausteinen und 24 Ringatomen zur Herstellung von endoparasitiziden Mitteln.

Zu den cyclischen Depsipeptiden mit 24 Ringatomen zählen Verbindungen der allgemeinen Formel (I)



in welcher

5

R^1 , R^2 , R^{11} und R^{12} unabhängig voneinander für C_{1-8} -Alkyl, C_{1-8} -Halogenalkyl, C_{3-6} -Cycloalkyl, Aralkyl, Aryl stehen,

10

R^3 , R^5 , R^7 , R^9 unabhängig voneinander für Wasserstoff oder geradkettiges oder verzweigtes C_{1-8} -Alkyl steht, das gegebenenfalls durch Hydroxy, C_{1-4} -

Alkoxy, Carboxy, $(-\text{COH})$, Carboxamid, $(-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}_2)$, Imidazolyl, Indolyl,

15

Guanidino, -SH oder C_{1-4} -Alkylthio substituiert sein kann und ferner für Aryl oder Aralkyl die durch Halogen, Hydroxy, C_{1-4} -Alkyl, C_{1-4} -Alkoxy substituiert sein können, steht,

20

R^4 , R^6 , R^8 , R^{10} unabhängig voneinander für Wasserstoff, geradkettiges C_{1-5} -Alkyl, C_{2-6} -Alkenyl, C_{3-7} -Cycloalkyl, die gegebenenfalls durch Hydroxy, C_{1-4} -Alkoxy, Carboxy, Carboxamid, Imidazolyl, Indolyl, Guanidino, SH oder C_{1-4} -Alkylthio substituiert sein können, sowie für Aryl oder Aralkyl die durch Halogen, Hydroxy, C_{1-4} -Alkyl, C_{1-4} -Alkoxy substituiert sein können, stehen

sowie deren optische Isomere und Racemate.

Bevorzugt werden Verbindungen der Formel (I) eingesetzt, in welcher

- 5 R^1, R^2, R^{11} und R^{12} unabhängig voneinander für Methyl, Ethyl, Propyl, Isopropyl, n-, s-, t-Butyl oder Phenyl, das gegebenenfalls substituiert ist durch Halogen, C_{1-4} -Alkyl, OH, C_{1-4} -Alkoxy, sowie für Benzyl oder Phenylethyl stehen, die gegebenenfalls durch die bei Phenyl angegebenen Reste substituiert sein können und

- 10 R^3 bis R^{10} die oben angegebene Bedeutung haben.

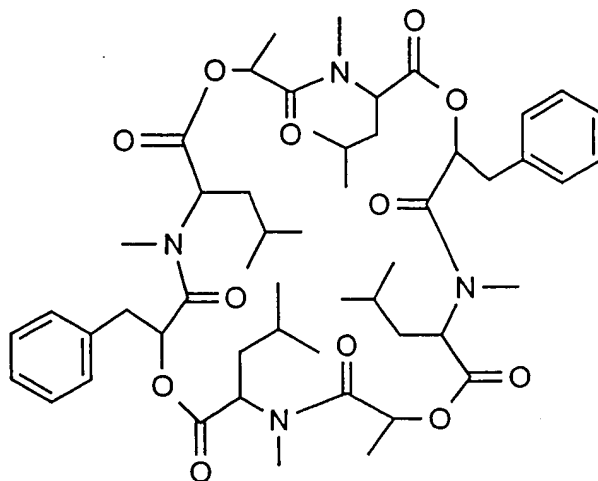
Besonders bevorzugt sind Verbindungen der Formel (I), in welcher

- 15 R^1, R^2, R^{11} und R^{12} unabhängig voneinander für Methyl, Ethyl, Propyl, Isopropyl oder n-, s-, t-Butyl stehen,

- 20 R^3, R^5, R^7, R^9 für Wasserstoff, geradkettiges oder verzweigtes C_{1-8} -Alkyl, insbesondere Methyl, Ethyl, Propyl, i-Propyl, n-, s-, t-Butyl, die gegebenenfalls durch C_{1-4} -Alkoxy, insbesondere Methoxy, Ethoxy, Imidazolyl, Indolyl oder C_{1-4} -Alkylthio, insbesondere Methylthio, Ethylthio substituiert sein können, ferner für Phenyl, Benzyl oder Phenethyl stehen, die gegebenenfalls durch Halogen insbesondere Chlor substituiert sein können und

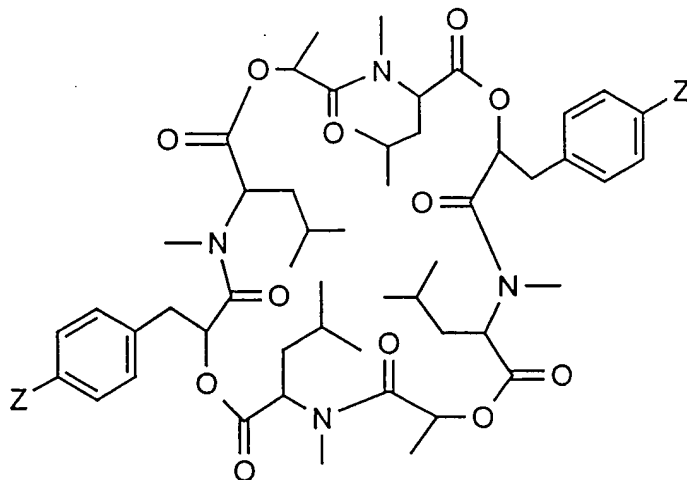
- 25 R^4, R^6, R^8, R^{10} unabhängig voneinander für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, n-Propyl, n-Butyl, Vinyl, Cyclohexyl, die gegebenenfalls durch Methoxy, Ethoxy, Imidazolyl, Indolyl, Methylthio, Ethylthio substituiert sein können sowie für Isopropyl, s-Butyl ferner für gegebenenfalls halogensubstituiertes Phenyl, Benzyl oder Phenylethyl stehen.

- 30 Weiterhin sei als 24 ringgliedriges Depsipeptid die aus EP-OS 382 173 bekannte Verbindung PF 1022 der folgenden Formel genannt:



Außerdem seien als Depsipeptide die aus der PCT-Anmeldung WO 93/19053 bekannten Verbindungen genannt.

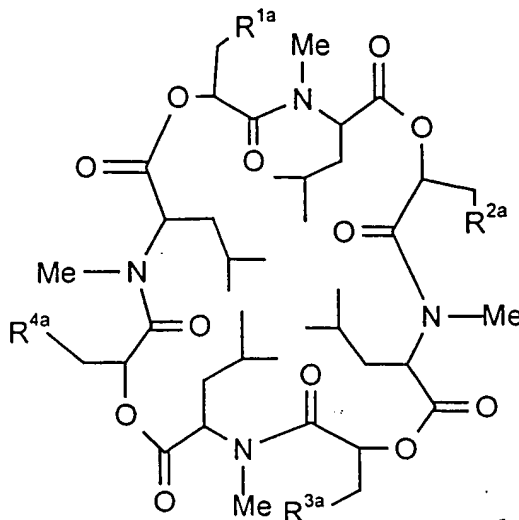
Insbesondere seien aus PCT-Anmeldung WO 93/19053 die Verbindungen der folgenden Formel genannt:



in welcher

Z für N-Morpholinyl, Nitro, Amino, Mono- oder Dimethylamino steht, besonders hervorgehoben für N-Morpholinyl.

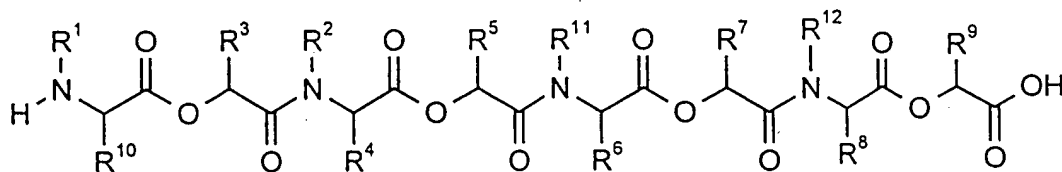
Außerdem seien Verbindungen der folgenden Formel genannt:



in welcher

- 5 R^{1a} , R^{2a} , R^{3a} , R^{4a} unabhängig voneinander für Wasserstoff, C_1 - C_{10} -Alkyl oder Aryl, insbesondere Phenyl stehen, die gegebenenfalls substituiert sind durch Hydroxy, C_1 - C_{10} -Alkoxy oder Halogen.

- 10 Die Verbindungen der Formel (I) können hergestellt werden, indem man offenkettige Octadepsipeptide der Formel (II)



(II)

- 15 in welcher

R^1 bis R^{12} die oben angegebene Bedeutung haben,

- 20 in Gegenwart eines Verdünnungsmittels und in Gegenwart eines Kupplungsreagenzes cyclisiert.

5 Als Kupplungsreagenzien eignen sich alle Verbindungen, die zur Knüpfung einer Amidbindung geeignet sind (vgl. z.B.: Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Band 15/2; Bodanszky et al., Peptide Synthesis 2nd ed. (Wiley / Sons, New York 1976).

10 Vorzugsweise kommen folgende Reagenzien und Methoden in Frage: Aktivestermethode mit Pentafluorphenol (Pfp), N-Hydroxysuccinimid, 1-Hydroxybenzotriazol, Kupplung mit Carbodiimiden, wie Dicyclohexylcarbodiimid oder N'-(3-Dimethylaminopropyl)-N-ethyl-carbodiimid (Ebc) sowie die gemischte Anhydrid-Methode oder die Kupplung mit Phosphoniumreagenzien, wie Benzotriazol-1-yl-oxytris(dimethylaminophosphonium)-hexafluorophosphat (BOP), Bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)-phosphoniumsäurechlorid (BOP-Cl), oder mit Phosphonsäureesterreagentien, wie Cyanphosphonsäurediethylester (DEPC) und Diphenylphospharylazid (DPPA).

15 Besonders bevorzugt ist die Kupplung mit Bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)-phosphoniumsäurechlorid (BOP-Cl) und N'-(3-Dimethylaminopropyl)-N-ethylcarbodiimid (EDC) in Gegenwart von 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt).

20 Die Umsetzung erfolgt bei Temperaturen von 0 - 150°C, bevorzugt bei 20 bis 100°C, besonders bevorzugt bei Raumtemperatur.

Als Verdünnungsmittel kommen alle inerten organischen Lösungsmittel in Frage. Hierzu gehören insbesondere aliphatische und aromatische, gegebenenfalls halogenierte Kohlenwasserstoffe, wie Pentan, Hexan, Heptan, Cyclohexan, Petrolether, Benzin, Ligroin, Benzol, Toluol, Methylenchlorid, Ethylenchlorid, Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Chlorbenzol und o-Dichlorbenzol, ferner Ether wie Diethyl- und Dibutylether, Glykoldimethylether und Diglykoldimethylether, Tetrahydrofuran und Dioxan, weiterhin Ketone, wie Aceton, Methylethyl-, Methylisopropyl- und Methylisobutylketon, außerdem Ester, wie Essigsäure-methylester und -ethylester, ferner Nitrile, wie z.B. Acetonitril und Propionitril, Benzonitril, Glutarsäuredinitril,

25

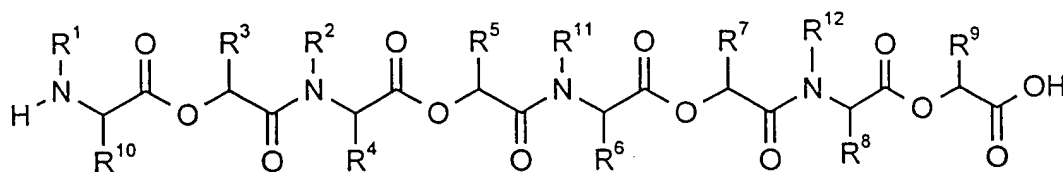
30

darüber hinaus Amide, wie z.B. Dimethylformamid, Dimethylacetamid und N-Methylpyrrolidon, sowie Dimethylsulfoxid, Tetramethylensulfon und Hexamethylphosphorsäuretriamid.

- 5 Die Verbindungen der Formeln (II) und die Kupplungsreagenzien werden im Verhältnis 1:1 bis 1:1,5 zueinander eingesetzt. Bevorzugt ist ein etwa äquimolares Verhältnis.

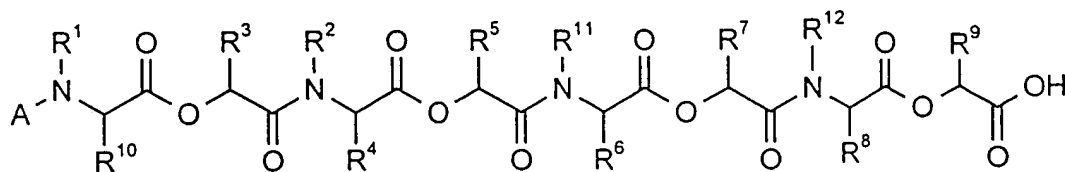
10 Nach erfolgter Umsetzung wird das Verdünnungsmittel abdestilliert und die Verbindungen der Formel (I) in üblicher Weise, z.B. chromatographisch, gereinigt.

Die offenkettigen Octadepsipeptide der Formel (II)



(II)

in welcher die Reste die oben angegebenen Bedeutungen haben werden erhalten, indem man Verbindungen der Formel (III)



(III)

25 in welcher

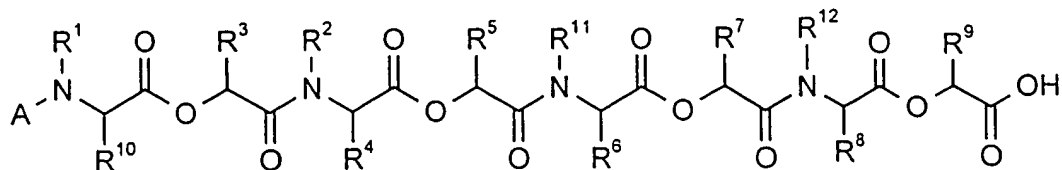
A für Benzyl und

R¹ bis R¹² die oben angegebene Bedeutung besitzen,

in Gegenwart eines Verdünnungsmittels und eines Katalysators hydrogenolysiert.

Die Verbindungen der Formel (III)

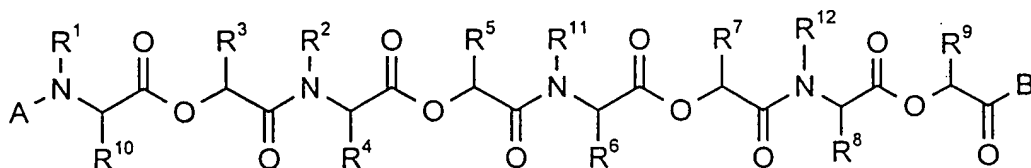
5



(III)

in welcher die Reste die oben angegebene Bedeutung haben, werden erhalten, indem

man Verbindungen der Formel (IV)

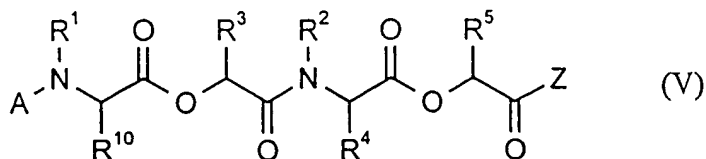


15

(IV)

in welcher die Reste A und R^1 bis R^{12} die oben angegebene Bedeutung haben und B für t-Butoxy steht, hydrolysiert.

Verbindungen der Formel (IV) sowie deren Stereoisomere, werden erhalten, indem man Tetrapeptide der Formel (V)



25

in welcher

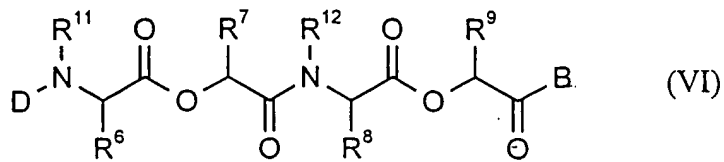
A für Benzyl und

Z für OH steht sowie

R^1, R^2, R^3, R^4, R^5 und R^{10} die oben angegebene Bedeutung haben

5

und Tetradepsipeptide der Formel (VI)



in welcher

10

D für Wasserstoff und

B für tert.-Butoxy steht sowie

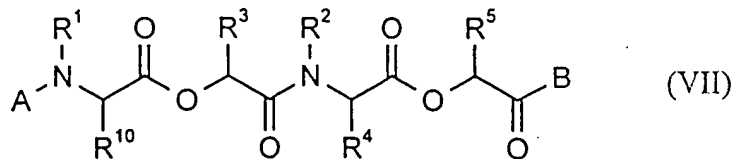
15

$R^6, R^7, R^8, R^9, R^{11}$ und R^{12} die oben angegebene Bedeutung haben,

in Gegenwart eines Verdünnungsmittels und eines Kupplungsreagenzen kondensiert.

Tetradepsipeptide der Formel (V) werden erhalten, indem man Tetradepsipeptide der Formel (VII)

20



in welcher

25

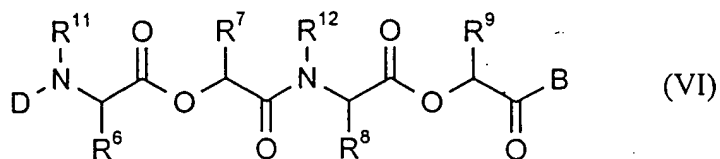
A für Benzyl und

B für tert.-Butoxy steht sowie

R^1, R^2, R^3, R^4, R^5 und R^{10} die oben angegebene Bedeutung besitzen,

5 in Gegenwart eines Verdünnungsmittels und einer Protonensäure verseift.

Tetradepsipeptide der Formel (VI)

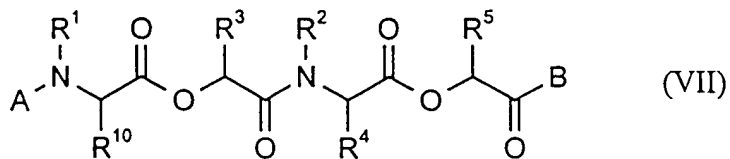


10 in welcher

D für Wasserstoff und

15 B für tert.-Butoxy steht und die übrigen Reste die oben angegebene Bedeutung haben,

werden erhalten, indem man Tetradepsipeptide der Formel (VII)



20 in welcher

A für Benzyl und

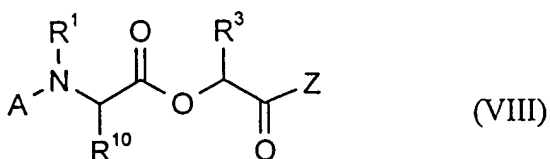
B für tert.-Butoxy steht sowie

25

R^1, R^2, R^3, R^4, R^5 und R^{10} die oben angegebene Bedeutung besitzen,

in Gegenwart eines Verdünnungsmittels und eines Katalysators hydrogenolysiert.

5 Tetradepsiptide der Formel (VII) werden erhalten, indem man Didepsiptide der Formel (VIII)



in welcher

10

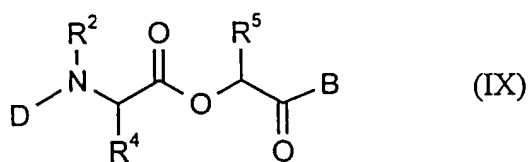
A für Benzyl und

Z für OH steht sowie

R¹, R³ und R¹⁰ die oben angegebene Bedeutung besitzen und

15

Didepsiptide der Formel (IX)



in welcher

20

D für Wasserstoff und

B für tert.-Butoxy steht sowie

25

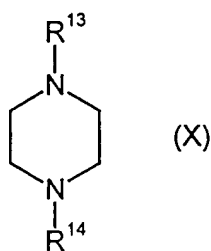
R², R⁴ und R⁵ die oben angegebene Bedeutung besitzen,

in einem Verdünnungsmittel in Gegenwart eines Kupplungsreagenzes kondensiert.

Die aus WO 93/19 053 bzw. aus EP-OS 382 173 bekannten Depsipeptide können nach den dort beschriebenen Methoden enthalten werden.

5

Zu den Piperazinen gehören alle Verbindungen der Formel (X)



in welcher

10

R^{13} und R^{14}

unabhängig voneinander für gleiche oder verschiedene Substituenten aus der Gruppe Wasserstoff, jeweils gegebenenfalls substituiertes Alkyl, Cycloalkyl, Aryl, Heteroaryl sowie $-\text{CONR}^{15}\text{R}^{16}$ oder $-\text{CSNR}^{15}\text{R}^{16}$ stehen, in welchen

15

R^{15} und R^{16} unabhängig voneinander für gleiche oder verschiedene Substituenten aus der Gruppe Wasserstoff, jeweils gegebenenfalls substituiertes Alkyl oder Cycloalkyl stehen.

20

Bevorzugt sind Verbindungen der Formel (X) in welcher

R^{13} und R^{14}

unabhängig voneinander für gleiche oder verschiedene Substituenten aus der Gruppe Wasserstoff, jeweils gegebenenfalls substituiertes $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-Alkyl}$, $\text{C}_3\text{-C}_8\text{-Cycloalkyl}$ sowie $-\text{CONR}^{15}\text{R}^{16}$ oder $-\text{CSNR}^{15}\text{R}^{16}$ stehen, in welchen

25

R^{15} und R^{16} unabhängig voneinander für gleiche oder verschiedene Substituenten aus der Gruppe Wasserstoff, jeweils gegebenenfalls substituiertes C_1 - C_6 -Alkyl oder C_3 - C_8 -Cycloalkyl stehen.

5

Besonders bevorzugt sind Verbindungen der Formel (X) in welcher

R^{13} und R^{14} unabhängig voneinander für gleiche oder verschiedene Substituenten aus der Gruppe Wasserstoff, jeweils gegebenenfalls substituiertes C_1 - C_4 -Alkyl, C_6 -Cycloalkyl sowie $-\text{CONR}^{15}\text{R}^{16}$ oder $-\text{CSNR}^{15}\text{R}^{16}$ stehen, in welchen

15

R^{15} und R^{16} unabhängig voneinander für gleiche oder verschiedene Substituenten aus der Gruppe Wasserstoff, jeweils gegebenenfalls substituiertes C_1 - C_4 -Alkyl oder C_6 -Cycloalkyl stehen.

Ganz besonders bevorzugt sind Verbindungen der Formel (X) in welcher

20

R^{13} und R^{14} unabhängig voneinander für gleiche oder verschiedene Substituenten aus der Gruppe Wasserstoff, C_1 - C_4 -Alkyl, C_1 - C_4 -Haloalkyl mit 1 bis 9 gleichen oder verschiedenen Halogenatomen aus der Reihe F, Cl, oder Br, C_6 -Cycloalkyl sowie $-\text{CONR}^{15}\text{R}^{16}$ oder $-\text{CSNR}^{15}\text{R}^{16}$ stehen, in welchen

25

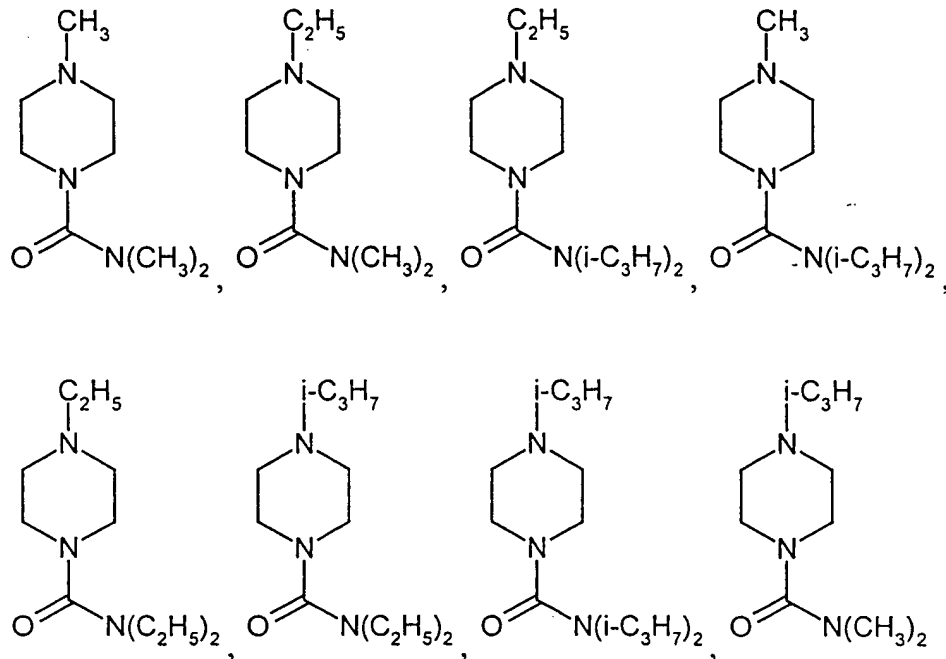
R^{15} und R^{16} unabhängig voneinander für gleiche oder verschiedene Substituenten aus der Gruppe Wasserstoff, C_1 - C_4 -Alkyl oder C_6 -Cycloalkyl stehen.

30

Beispielhaft, aber nicht einschränkend seien die folgenden Verbindungen genannt:

Piperazin, Diethylcarbamazin, N,N'-Dimethylpiperazin, N-Methylpiperazin, N,N'-Diethylpiperazin, N-Ethylpiperazin, N-Ethyl-N'-methylpiperazin, N,N'-Dipropylpiperazin, N-Propylpiperazin, N-Ethyl-N'-propylpiperazin, N-Methyl-N'-propylpiperazin, N-Cyclohexylpiperazin, N,N'-Dicyclohexylpiperazin,

5



10

speziell hervorgehoben seien dabei Piperazin und Diethylcarbamazin.

15

Die Piperazine sind allgemein bekannte organische Verbindungen und sind kommerziell erhältlich oder können nach bekannten Methoden erhalten werden. (Mehlhorn et al. Diagnostik und Therapie der Parasitosen des Menschen 2. Auflage, Gustav Fischer (1995), Mehlhorn et al. Diagnostik und Therapie der Parasitosen von Haus-, Nutz- und Heimtieren, 2. Auflage Gustav Fischer (1993)).

20

Die erfindungsgemäßen Mittel eignen sich bei günstiger Warmblüttoxizität zur Bekämpfung von pathogenen Endoparasiten die bei Menschen und in der Tierhaltung und Tierzucht bei Nutz-, Zucht-, Zoo-, Labor-, Versuchs- und Hobbytieren vorkommen. Sie sind dabei gegen alle oder einzelne Entwicklungsstadien der Schädlinge sowie gegen resistente und normal sensible Arten wirksam. Durch die Bekämpfung der pathogenen

Endoparasiten sollen Krankheit, Todesfälle und Leistungsminderungen (z.B. bei der Produktion von Fleisch, Milch, Wolle, Häuten, Eiern, Honig usw.) vermindert werden, so daß durch den Einsatz der Wirkstoffe eine wirtschaftlichere und einfachere Tierhaltung möglich ist. Zu den pathogenen Endoparasiten zählen Cestoden, Trematoden, Nematoden, Acantocephalen insbesondere:

5

Aus der Ordnung der Pseudophyllidea z.B.: Diphylobothrium spp., Spirometra spp., Schistocephalus spp., Ligula spp., Bothridium spp., Diphlogonoporus spp..

10

Aus der Ordnung der Cyclophyllidea z.B.: Mesocestoides spp., Anoplocephala spp., Paranoplocephala spp., Moniezia spp., Thysanosomus spp., Thysaniezia spp., Avitellina spp., Stilesia spp., Cittotaenia spp., Andrya spp., Bertiella spp., Taenia spp., Echinococcus spp., Hydatigera spp., Davainea spp., Raillietina spp., Hymenolepis spp., Echinolepis spp., Echinocotyle spp., Diorchis spp., Dipylidium spp., Joyeuxiella spp., Diplopylidium spp..

15

Aus der Unterklasse der Monogenea z.B.: Gyrodactylus spp., Dactylogyrus spp., Polystoma spp..

20

Aus der Unterklasse der Digenea z.B.: Diplostomum spp., Posthodiplostomum spp., Schistosoma spp., Trichobilharzia spp., Ornithobilharzia spp., Austrobilharzia spp., Gigantobilharzia spp., Leucochloridium spp., Brachylaima spp., Echinostoma spp., Echinoparyphium spp., Echinochasmus spp., Hypoderaeum spp., Fasciola spp., Fasciolides spp., Fasciolopsis spp., Cyclocoelum spp., Typhlocoelum spp., Paramphistomum spp., Calicophoron spp., Cotylophoron spp., Gigantocotyle spp., Fiscoederius spp., Gastrothylacus spp., Notocotylus spp., Catatropis spp., Plagiorchis spp., Prosthogonimus spp., Dicrocoelium spp., Eurytrema spp., Troglotrema spp., Paragonimus spp., Collyriclum spp., Nanophyetus spp., Opisthorchis spp., Clonorchis spp., Metorchis spp., Heterophyes spp., Metagonimus spp..

25

30

Aus der Ordnung der Enoplida z.B.: Trichuris spp., Capillaria spp., Trichomosoides spp., Trichinella spp..

Aus der Ordnung der Rhabditia z.B.: Micronema spp., Strongyloides spp..

5

Aus der Ordnung der Strongylida z.B.: Strongylus spp., Triodontophorus spp., Oesophagodontus spp., Trichonema spp., Gyalocephalus spp., Cyliodropharynx spp., Poterostomum spp., Cyclocercus spp., Cylicostephanus spp., Oesophagostomum spp., Chabertia spp., Stephanurus spp., Ancylostoma spp., Uncinaria spp., Bunostomum spp.,

10

Globocephalus spp., Syngamus spp., Cyathostomum spp., Metastrongylus spp., Dictyocaulus spp., Muellerius spp., Protostrongylus spp., Neoststrongylus spp., Cystocaulus spp., Pneumoststrongylus spp., Spicocaulus spp., Elaphoststrongylus spp., Parelaphoststrongylus spp., Crenosoma spp., Paracrenosoma spp., Angioststrongylus spp., Aelurostrongylus spp., Filaroides spp., Parafilaroides spp., Trichostrongylus spp., Haemonchus spp., Ostertagia spp., Marshallagia spp., Cooperia spp., Nematodirus spp., Hyoststrongylus spp., Obeliscoides spp., Amidostomum spp., Ollulanus spp., Cylicocyclus spp., Crateostomum spp., Cylicodontophorus spp..

15

20

Aus der Ordnung der Oxyurida z.B.: Oxyuris spp., Enterobius spp., Passalurus spp., Syphacia spp., Aspicularis spp., Heterakis spp..

Aus der Ordnung der Ascaridia z.B.: Ascaris spp., Toxascaris spp., Toxocara spp., Parascaris spp., Anisakis spp., Ascaridia spp..

25

Aus der Ordnung der Spirurida z.B.: Gnathostoma spp., Physaloptera spp., Thelazia spp., Gongylonema spp., Habronema spp., Parabronema spp., Draschia spp., Dracunculus spp..

30

Aus der Ordnung der Filariida z.B.: *Stephanofilaria* spp., *Parafilaria* spp., *Setaria* spp., *Loa* spp., *Dirofilaria* spp., *Litomosoides* spp., *Brugia* spp., *Wuchereria* spp., *Onchocerca* spp..

- 5 Aus der Ordnung der Gigantorhynchida z.B.: *Filicollis* spp., *Moniliformis* spp., *Macracanthorhynchus* spp., *Prosthenorchis* spp..

10 Zu den Nutz- und Zuchttieren gehören Säugetiere wie z.B. Rinder, Pferde, Schafe, Schweine, Ziegen, Kamele, Wasserbüffel, Esel, Kaninchen, Damwild, Rentiere, Pelztiere wie z.B. Nerze, Chinchilla, Waschbär, Vögel wie z.B. Hühner, Gänse, Puten, Enten, Strauße, Süß- und Salzwasserfische wie z.B. Forellen, Karpfen, Aale, Reptilien, Insekten wie z.B. Honigbiene und Seidenraupe.

15 Zu Labor- und Versuchstieren gehören Mäuse, Ratten, Meerschweinchen, Goldhamster, Hunde und Katzen.

Zu den Hobbytieren gehören Hunde und Katzen.

20 Die Anwendung kann sowohl prophylaktisch als auch therapeutisch erfolgen.

Die Anwendung der Wirkstoffmischungen erfolgt direkt oder in Form von geeigneten Zubereitungen enteral, parenteral, dermal, nasal, durch Behandlung der Umgebung oder mit Hilfe wirkstoffhaltiger Formkörper wie z.B. Streifen, Platten, Bänder, Halsbänder, Ohrmarken, Gliedmaßenbänder, Markierungsvorrichtungen.

25

Die enterale Anwendung der Wirkstoffmischungen geschieht z.B. oral in Form von Pulver, Tabletten, Kapseln, Pasten, Tränken, Granulaten, oral applizierbaren Lösungen, Suspensionen und Emulsionen, Boli, medikiertem Futter oder Trinkwasser. Die dermale Anwendung geschieht z.B. in Form des Tauchens (Dippen), Sprühens (Sprayen) oder Aufgießens (pour-on und spot-on). Die parenterale Anwendung ge-

30

schießt z.B. in Form der Injektion (intramuskulär, subcutan, intravenös, intraperitoneal) oder durch Implantate.

Geeignete Zubereitungen sind:

5

Lösungen wie Injektionslösungen, orale Lösungen, Konzentrate zur oralen Verabreichung nach Verdünnung, Lösungen zum Gebrauch auf der Haut oder in Körperhöhlen, Aufgußformulierungen, Gele;

10

Emulsionen und Suspension zur oralen oder dermalen Anwendung sowie zur Injektion; halbfeste Zubereitungen;

Formulierungen bei denen die Wirkstoffmischung in einer Salbengrundlage oder in einer Öl in Wasser oder Wasser in Öl Emulsionsgrundlage verarbeitet ist;

15

Feste Zubereitungen wie Pulver, Premixe oder Konzentrate, Granulate, Pellets, Tabletten, Boli, Kapseln; Aerosole und Inhalate, wirkstoffmischungshaltige Formkörper.

20

Injektionslösungen werden intravenös, intramuskulär und subcutan verabreicht.

Injektionslösungen werden hergestellt, indem die Wirkstoffmischung in einem geeigneten Lösungsmittel gelöst wird und eventuell Zusätze wie Lösungsvermittler, Säuren, Basen, Puffersalze, Antioxidantien, Konservierungsmittel zugefügt werden.

25

Die Lösungen werden steril filtriert und abgefüllt.

Als Lösungsmittel seien genannt: Physiologisch verträgliche Lösungsmittel wie Wasser, Alkohole wie Ethanol, Butanol, Benzylalkohol, Glycerin, Propylenglykol, Polyethylenglykole, N-Methyl-pyrrolidon, sowie Gemische derselben.

30

Die Wirkstoffmischung lassen sich gegebenenfalls auch in physiologisch verträglichen pflanzlichen oder synthetischen Ölen, die zur Injektion geeignet sind, lösen.

5 Als Lösungsvermittler seien genannt: Lösungsmittel, die die Lösung der Wirkstoffmischung im Hauptlösungsmittel fördern oder sein Ausfallen verhindern. Beispiele sind Polyvinylpyrrolidon, polyoxyethyliertes Rhizinusöl, polyoxyethylierte Sorbitanester.

10 Konservierungsmittel sind: Benzylalkohol, Trichlorbutanol, p-Hydroxybenzoesäureester, n-Butanol.

15 Orale Lösungen werden direkt angewendet. Konzentrate werden nach vorheriger Verdünnung auf die Anwendungskonzentration oral angewendet. Orale Lösungen und Konzentrate werden wie oben bei den Injektionslösungen beschrieben hergestellt, wobei auf steriles Arbeiten verzichtet werden kann.

Lösungen zum Gebrauch auf der Haut werden aufgeträufelt, aufgestrichen, eingerieben, aufgespritzt oder aufgesprüht. Diese Lösungen werden wie oben bei den Injektionslösungen beschrieben hergestellt.

20 Es kann vorteilhaft sein, bei der Herstellung Verdickungsmittel zuzufügen. Verdickungsmittel sind: Anorganische Verdickungsmittel wie Bentonite, kolloidale Kieselsäure, Aluminiummonostearat, organische Verdickungsmittel wie Cellulose-derivate, Polyvinylalkohole und deren Copolymere, Acrylate und Metacrylate.

25 Gele werden auf die Haut aufgetragen oder aufgestrichen oder in Körperhöhlen eingebracht. Gele werden hergestellt indem Lösungen, die wie bei den Injektionslösungen beschrieben hergestellt worden sind, mit soviel Verdickungsmittel versetzt werden, daß eine klare Masse mit salbenartiger Konsistenz entsteht. Als Verdickungsmittel werden
30 die weiter oben angegebenen Verdickungsmittel eingesetzt.

Aufgieß-Formulierungen werden auf begrenzte Bereiche der Haut aufgegossen oder aufgespritzt, wobei der Wirkstoff die Haut durchdringt und systemisch wirkt.

5 Aufgieß-Formulierungen werden hergestellt, indem die Wirkstoffmischung in geeigneten hautverträglichen Lösungsmitteln oder Lösungsmittelgemischen gelöst, suspendiert oder emulgiert wird. Gegebenenfalls werden weitere Hilfsstoffe wie Farbstoffe, resorptionsfördernde Stoffe, Antioxidantien, Lichtschutzmittel, Haftmittel zugefügt.

10 Als Lösungsmittel seien genannt: Wasser, Alkanole, Glyeole, Polyethylenglycole, Polypropylenglycole, Glycerin, aromatische Alkohole wie Benzylalkohol, Phenyl-ethanol, Phenoxyethanol, Ester wie Essigester, Butylacetat, Benzylbenzoat, Ether wie Alkylenglykolalkylether wie Dipropylenglykolmonomethylether, Diethylenglykol-mono-butylether, Ketone wie Aceton, Methylethylketon, aromatische und/oder
15 aliphatische Kohlenwasserstoffe, pflanzliche oder synthetische Öle, DMF, Dime-thylacetamid, N-Methylpyrrolidon, 2,2-Dimethyl-4-oxy-methylen-1,3-dioxolan.

Farbstoffe sind alle zur Anwendung am Tier zugelassenen Farbstoffe, die gelöst oder suspendiert sein können.

20 Resorptionsfördernde Stoffe sind z.B. DMSO, spreitende Öle wie Isopropylmyristat, Dipropylenglykolpelargonat, Silikonöle, Fettsäureester, Triglyceride, Fettalkohole.

Antioxidantien sind Sulfite oder Metabisulfite wie Kaliummetabisulfit, Ascorbinsäure,
25 Butylhydroxytoluol, Butylhydroxyanisol, Tocopherol.

Lichtschutzmittel sind z.B. Novantisolsäure.

Haftmittel sind z.B. Cellulosederivate, Stärkederivate, Polyacrylate, natürliche Poly-
30 mere wie Alginate, Gelatine.

Emulsionen können oral, dermal oder als Injektionen angewendet werden.

Emulsionen sind entweder vom Typ Wasser in Öl oder vom Typ Öl in Wasser.

- 5 Sie werden hergestellt, indem man die Wirkstoffmischung entweder in der hydrophoben oder in der hydrophilen Phase löst und diese unter Zuhilfenahme geeigneter Emulgatoren und gegebenenfalls weiterer Hilfsstoffe wie Farbstoffe, resorptionsfördernde Stoffe, Konservierungsstoffe, Antioxidantien, Lichtschutzmittel, viskositäts erhöhende Stoffe, mit dem Lösungsmittel der anderen Phase homogenisiert.

10

Als hydrophobe Phase (Öle) seien genannt: Paraffinöle, Silikonöle, natürliche Pflanzenöle wie Sesamöl, Mandelöl, Rizinusöl, synthetische Triglyceride wie Capryl/Caprinsäure-biglycerid, Triglyceridgemisch mit Pflanzenfettsäuren der Kettenlänge C_8 , C_{12} oder anderen speziell ausgewählten natürlichen Fettsäuren, Partialglyceridgemische gesättigter oder ungesättigter eventuell auch hydroxylgruppenhaltiger Fettsäuren, Mono- und Diglyceride der C_8/C_{10} -Fettsäuren.

15

20

Fettsäureester wie Ethylstearat, Di-n-butyryl-adipat, Laurinsäurehexylester, Dipropylenglykopolargonat, Ester einer verzweigten Fettsäure mittlerer Kettenlänge mit gesättigten Fettalkoholen der Kettenlänge C_{16} - C_{18} , Isopropylmyristat, Isopropylpalmitat, Capryl/Caprinsäureester von gesättigten Fettalkoholen der Kettenlänge C_{12} - C_{18} , Isopropylstearat, Ölsäureoleylester, Ölsäuredecylester, Ethyloleat, Milchsäureethylester, wachsartige Fettsäureester wie künstliches Entenbürzeldrüsenfett, Dibutylphthalat, Adipinsäurediisopropylester, letzterem verwandte Estergemische u.a.

25

Fettalkohole wie Isotridecylalkohol, 2-Octyldodecanol, Cetylstearyl-alkohol, Oleylalkohol.

Fettsäuren wie z.B. Ölsäure und ihre Gemische.

30

Als hydrophile Phase seien genannt:

Wasser, Alkohole wie z.B. Propylenglycol, Glycerin, Sorbitol und ihre Gemische.

Als Emulgatoren seien genannt: nichtionogene Tenside, z.B. polyoxyethyliertes Rizinusöl, polyoxyethyliertes Sorbitan-monooleat, Sorbitanmonostearat, Glycerinmonostearat, Polyoxyethylstearat, Alkylphenolpolyglykolether;

ampholytische Tenside wie Di-Na-N-lauryl- β -iminodipropionat oder Lecithin;

anionaktive Tenside, wie Na-Laurylsulfat, Fettalkoholethersulfate, Mono/Dialkylpolyglykoletherorthophosphorsäureester-monoethanolaminsalz;

kationaktive Tenside wie Cetyltrimethylammoniumchlorid.

Als weitere Hilfsstoffe seien genannt: Viskositätserhöhende und die Emulsion stabilisierende Stoffe wie Carboxymethylcellulose, Methylcellulose und andere Cellulose- und Stärke-Derivate, Polyacrylate, Alginate, Gelatine, Gummi-arabicum, Polyvinylpyrrolidon, Polyvinylalkohol, Copolymere aus Methylvinylether und Maleinsäureanhydrid, Polyethylenglykole, Wachse, kolloidale Kieselsäure oder Gemische der aufgeführten Stoffe.

Suspensionen können oral, dermal oder als Injektion angewendet werden. Sie werden hergestellt, indem man den Wirkstoff in einer Trägerflüssigkeit gegebenenfalls unter Zusatz weiterer Hilfsstoffe wie Netzmittel, Farbstoffe, resorptionsfördernde Stoffe, Konservierungsstoffe, Antioxidantien Lichtschutzmittel suspendiert.

Als Trägerflüssigkeiten seien alle homogenen Lösungsmittel und Lösungsmittelgemische genannt.

Als Netzmittel (Dispergiermittel) seien die weiter oben angegebene Tenside genannt.

Als weitere Hilfsstoffe seien die weiter oben angegebenen genannt.

Halbfeste Zubereitungen können oral oder dermal verabreicht werden. Sie unterscheiden sich von den oben beschriebenen Suspensionen und Emulsionen nur durch ihre höhere Viskosität.

5

Zur Herstellung fester Zubereitungen wird der Wirkstoff mit geeigneten Trägerstoffen gegebenenfalls unter Zusatz von Hilfsstoffen vermischt und in die gewünschte Form gebracht.

10

Als Trägerstoffe seien genannt alle physiologisch verträglichen festen Inertstoffe. Als solche dienen anorganische und organische Stoffe. Anorganische Stoffe sind z.B. Kochsalz, Carbonate wie Calciumcarbonat, Hydrogencarbonate, Aluminiumoxide, Kieselsäuren, Tonerden, gefälltes oder kolloidales Siliciumdioxid, Phosphate.

15

Organische Stoffe sind z.B. Zucker, Zellulose, Nahrungs- und Futtermittel wie Milchpulver, Tiermehle, Getreidemehle und -schrote, Stärken.

Hilfsstoffe sind Konservierungsstoffe, Antioxidantien, Farbstoffe, die bereits weiter oben aufgeführt worden sind.

20

Weitere geeignete Hilfsstoffe sind Schmier- und Gleitmittel wie z.B. Magnesiumstearat, Stearinsäure, Talkum, Bentonite, zerfallsfördernde Substanzen wie Stärke oder quervernetztes Polyvinylpyrrolidon, Bindemittel wie z.B. Stärke, Gelatine oder lineares Polyvinylpyrrolidon sowie Trockenbindemittel wie mikrokristalline Cellulose.

25

Die Wirkstoffmischungen können in den Zubereitungen auch in Mischung mit weiteren Synergisten oder mit anderen Wirkstoffen, die gegen pathogene Endoparasiten wirken, vorliegen. Solche Wirkstoffe sind z.B. L-2,3,5,6-Tetrahydro-6-phenyl-imidazothiazol, Benzimidazolcarbamate, Pyrantel.

30

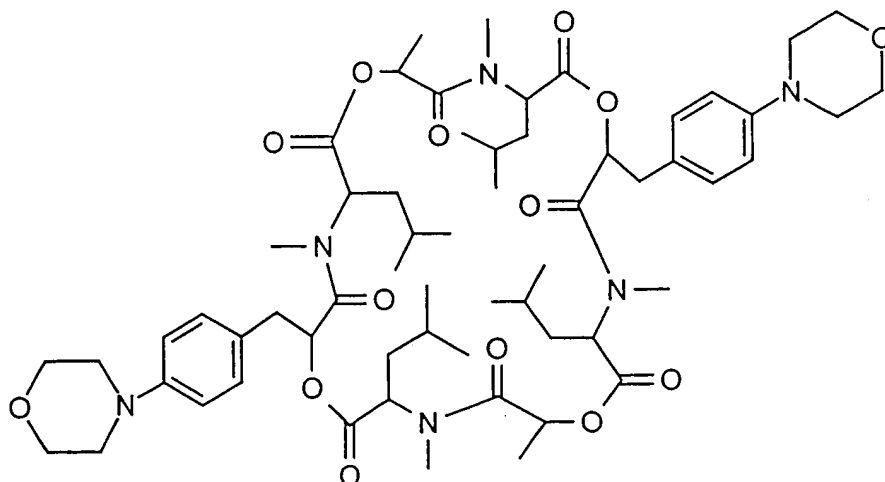
Anwendungsfertige Zubereitungen enthalten die Wirkstoffmischungen in Konzentrationen von 10 ppm - 20 Gewichtsprozent, bevorzugt von 0,1-10 Gewichtsprozent.-

Zubereitungen die vor Anwendung verdünnt werden, enthalten die Wirkstoff-
5 mischungen in Konzentrationen von 0,5-90 Gew.-%, bevorzugt von 5 bis
50 Gewichtsprozent.

10

15

In den biologischen Beispielen wurde als "Depsipeptid I" die Verbindung der Formel



bekannt aus WO 93/19 053, eingesetzt.

20

Die Durchführung der biologischen Tests erfolgte entsprechend den bekannten Verfahren (Plant et. al. Pesticide Science, 1996, 48, S. 351 ff.).

Biologische BeispieleTabelle 1

5

Synergistischer Effekt von Piperazin und Depsipeptid I gegen *Trichinella spiralis* in-vitro

| | Konzentration (µg/ml) | Wirkung |
|-------------------------|--------------------------|---------|
| Piperazin | 1000 | 0-1 |
| | 500 | 0 |
| Depsipeptid I | 0,01 | 0-1 |
| | 0,001 | 0 |
| Piperazin/Depsipeptid I | 1000/0,01 | 1-2 |
| Piperazin/Depsipeptid I | 500/0,01 | 1-2 |

10 0 = keine Wirkung; 1 = schwache Wirkung; 2 = gute Wirkung

Tabelle 2

Synergistischer Effekt von Piperazin und Depsipeptid I gegen Nematoden der Maus

| Heterakis spumosa | Dosis (mg/kg) | Wirkung | Nematospir- oides dibius | Dosis (mg/kg) | Wirkung |
|-----------------------------|-------------------|---------|-----------------------------|--------------------|---------|
| Piperazin | 4 x 250 | 1 | Piperazin | 2 x 2000 | 2 |
| | 4 x 100 | 0 | | 4 x 1000 | 1 |
| Depsipeptid I | 4 x 1 | 1 | PF1022-221 | 4 x 1 | 2 |
| | 4 x 0,5 | 1 | | 4 x 0,5 | 0-2 |
| Piperazin/ Depsipeptid I | 4 x 250/ 4 x 1 | 3 | Piperazin/ PF1022-221 | 2 x 2000/ 4 x 1 | 2-3 |
| | 4 x 100/ 4 x 1 | 2 | | 4 x 1000/ 4 x 1 | 2-3 |

15

0 = Wurmreduktion <50 %; 1 = Wurmreduktion 50-75 %; 2 = Wurmreduktion 75-90 %; 3 = volle Wirkung, Wurmreduktion >90 %

Herstellungsbeispiele

5

Beispiele für die Herstellung der cyclischen Depsipeptide mit 24 Ringatomen:

1. Herstellung der Verbindungen der Formel (I).

10

Zu einer Lösung der Verbindung der Formel II (0,104 mmol) und Hünig-Base (0,258 mmol) in Dichlormethan (100 ml) wurde bei 0°C BOP-Cl (0,124 mmol) zugegeben und 24 h bei Raumtemperatur nachgerührt. Nach dieser Zeit wurden dieselben Mengen BOP-Cl und Base zugesetzt und weitere 24 h gerührt. Die Lösung wurde zweimal mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wurde säulenchromatografisch mit dem Laufmittel Cyclohexan-Ethylacetat 2:1 gereinigt.

15

Es wurden Verbindungen der Formel (I) erhalten, in welcher die Substituenten die folgende Bedeutung haben (Tabelle 3):

20

Tabelle 3

| Nr. | R ^{1a} | R ^{2a} | R ^{3a} | R ^{4a} | R ^{5a} | R ^{6a} | R ^{7a} | R ^{8a} | R ^{9a} | R ^{10a} | R ^{11a} | R ^{12a} | FAB-MS m/z (%) |
|-----|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|-------------------------------------------------------------------|
| 1 | Et | Et | Me | s-Bu | Bn | s-Bu | Me | s-Bu | Bn | s-Bu | Et | Et | |
| 2 | Propyl | Propyl | " | " | " | " | " | " | " | " | Propyl | Propyl | |
| 3 | i-Propyl | i-Propyl | " | " | " | " | " | " | " | " | i-Propyl | i-Propyl | |
| 4 | Me | Me | " | s-Bu | " | s-Bu | " | s-Bu | " | s-Bu | Me | Me | 948 (82, (+H) ⁺) |
| 5 | Me | Me | " | i-Pr | " | i-Pr | " | i-Pr | " | i-Pr | Me | Me | 915 (100, (M+Na) ⁺) 893 (55, (M+H) ⁺) |
| 6 | Me | Me | " | Bn | " | Bn | " | Bn | " | Bn | Me | Me | 1107 (100, (M+Na) ⁺) 1085 (8, (M+H) ⁺) |
| 7 | Me | Me | " | s-Bu | 2-Cl-Bn | s-Bu | " | s-Bu | 2-Cl-Bn | s-Bu | Me | Me | |
| 8 | Me | Me | " | " | 2-Cl-Bn | " | " | " | 3-Cl-Bn | " | Me | Me | |
| 9 | Me | Me | " | " | 4-Cl-Bn | " | " | " | 4-Cl-Bn | " | Me | Me | |
| 10 | Propyl | i-Propyl | " | " | -Bn | " | " | " | -Bn | " | Propyl | i-Propyl | |

Me = Methyl

Et = Ethyl

Bu = Butyl

Pr = Propyl

Bn = Benzyl

Beispiele für die Herstellung der Verbindungen der Formel (II)

- 5 Eine Lösung eines offenkettigen Octadepsipeptides der Formel (III) (1,222 mmol) in Ethanol (50 ml) wurde in Gegenwart von $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (20 %; 200 mg) bis zur Beendigung der Wasserstoffaufnahme hydriert (ca. 2 h). Nach Abfiltrieren des Katalysators fiel reine Verbindung der Formel II an, die ohne zusätzliche Reinigung weiter umgesetzt wurde.

Gemäß dieser Vorschrift wurden Verbindungen der Formel (II) erhalten, in welcher die Substituenten die Bedeutung gemäß Tabelle 4 haben.

Tabelle 4

| Nr. | R ^{1a} | R ^{2a} | R ^{3a} | R ^{4a} | R ^{5a} | R ^{6a} | R ^{7a} | R ^{8a} | R ^{9a} | R ^{10a} | R ^{11a} | R ^{12a} |
|-----|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|
| 11 | Et | Et | Me | s-Bu | Bn | s-Bu | Me | s-Bu | Bn | s-Bu | Et | Et |
| 12 | Propyl | Propyl | " | " | " | " | " | " | " | " | Propyl | Propyl |
| 13 | i-Propyl | i-Propyl | " | " | " | " | " | " | " | " | i-Propyl | i-Propyl |
| 14 | Me | Me | " | " | " | " | " | " | " | " | Me | Me |
| 15 | Me | Me | " | i-Pr | " | i-Pr | " | i-Pr | " | i-Pr | Me | Me |
| 16 | M4 | Me | " | Bn | " | Bn | " | Bn | " | Bu | Me | Me |
| 17 | Me | Me | " | s-Bu | 2-Cl-Bn | s-Bu | " | s-Bu | 2-Cl-Bn | s-Bu | Me | Me |
| 18 | Me | Me | " | " | 3-Cl-Bn | " | " | " | 3-Cl-Bn | " | Me | Me |
| 19 | Me | Me | " | " | 4-Cl-Bn | " | " | " | 4-Cl-Bn | " | Me | Me |
| 20 | Propyl | i-Propyl | " | " | -Bn | " | " | " | -Bn | " | Propyl | i-Propyl |

5 Me = Methyl

Et = Ethyl

s-Bu = s-Butyl

Bn = Benzyl

Herstellung der Verbindungen der Formel (III)

In eine Lösung des tert.-Butylesters der Formel (IV) (1.609 mmol) in Dichlormethan (40 ml) wurde bei 0°C 1,5 h HCl-Gas eingeleitet. Anschließend wurde auf Raumtemperatur aufgewärmt und 12 h nachgerührt. Die Lösung wurde einrotiert und im
5 Hochvakuum getrocknet. Der Rückstand wurde ohne weitere Reinigung umgesetzt.

Analog wurden Verbindungen der Formel (III) erhalten, in welcher die Substituenten die folgende Bedeutung haben (Tabelle 5):

10

33.03.00

Tabelle 5

| Nr. | R ^{1a} | R ^{2a} | R ^{3a} | R ^{4a} | R ^{5a} | R ^{6a} | R ^{7a} | R ^{8a} | R ^{9a} | R ^{10a} | R ^{11a} | R ^{12a} | A |
|-----|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|----|
| 21 | Et | Et | Me | s-Bu | Bn | s-Bu | Me | s-Bu | Bn | s-Bu | Et | Et | Bn |
| 22 | Propyl | Propyl | " | " | " | " | " | " | " | " | Propyl | Propyl | " |
| 23 | i-Propyl | i-Propyl | " | " | " | " | " | " | " | " | i-Propyl | i-Propyl | " |
| 24 | Me | Me | " | " | " | " | " | " | " | " | Me | Me | " |
| 25 | Me | Me | " | i-Pr | " | i-Pr | " | i-Pr | " | i-Pr | Me | Me | " |
| 26 | M4 | Me | " | Bn | " | Bn | " | Bn | " | Bn | Me | Me | " |
| 27 | Me | Me | " | s-Bu | 2-Cl-Bn | s-Bu | " | s-Bu | 2-Cl-Bn | s-Bu | Me | Me | " |
| 28 | Me | Me | " | " | 2-Cl-Bn | " | " | " | 3-Cl-Bn | " | Me | Me | " |
| 29 | Me | Me | " | " | 4-Cl-Bn | " | " | " | 4-Cl-Bn | " | Me | Me | " |
| 30 | Propyl | i-Propyl | " | " | -Bn | " | " | " | -Bn | " | Propyl | i-Propyl | " |

Me = Methyl

Et = Ethyl

s-Bu = s-Butyl

Bn = Benzyl

Herstellung der Verbindungen der Formel (IV)

Zu einer Lösung der Tetrapeptide der Formel (VI) und (V) je (2.52 mmol), in Dichlormethan (15 ml) wurde bei 0°C eine Lösung von Ethyldiisopropylamin (0,912 mmol) und BOP-Cl (0,438 mmol) zugegeben. Es wurde 1 h bei 0°C und 1,5 h bei Raumtemperatur nachgerührt, mit 20 ml Dichlormethan verdünnt, zweimal mit wenig Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wurde an Kieselgel mit dem Laufmittel Cyclohexan-t-BuOMe = 2 : 1 gereinigt.

Herstellung der Verbindungen der Formel (V)

In eine Lösung des Tetrapeptids mit der Formel (VII) (2.848 mmol) in Dichlormethan (50 ml) wurde bei 0°C HCl-Gas 2 h eingeleitet.

Anschließend wurde 8 h bei Raumtemperatur nachgerührt, eingeeengt und im Hochvakuum getrocknet. Der Rückstand wurde ohne weitere Reinigung eingesetzt.

Herstellung der Verbindungen der Formel (VI)

Eine Lösung des Tetrapeptids mit der Formel (VII) (9.53 mmol) in Ethanol (37 ml) wurde mit Pd(OH)₂/C (20 %) (0,6 g) versetzt und ca. 3 h bei Raumtemperatur und Normaldruck hydriert. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert, eingeeengt und der Rückstand an Kieselgel mit dem Laufmittel t-BuOMe-Cyclohexan-Ethanol = 1:1:0,5 getrennt.

Herstellung der Verbindungen der Formel (VII)

Eine auf 0°C gekühlte Lösung des Dipeptids IX (22,9 mmol) und des Dipeptids VIIa (27,5 mmol) in Dichlormethan (80 ml) wurde mit Diisopropylethylamin (57,3 mmol) und BOP-Cl (29,8 mmol) versetzt, 1 h bei 0°C und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abfiltrieren des Niederschlages wurde die Lösung mit

Dichlormethan verdünnt, dreimal mit wenig Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingengt. Der Rückstand wurde an Kieselgel mit dem Laufmittel Cyclohexan-Ethylacetat = 15:1 getrennt.

Patentansprüche

1. Verwendung von Piperazinen zur Steigerung der endoparasitiziden Wirkung von cyclischen Depsipeptiden bestehend aus Aminosäuren und Hydroxycarbonsäuren als Ringbausteinen und mit 24 Ringatomen.
2. Endoparasitizide Mittel, die Piperazine zusammen mit cyclischen Depsipeptiden bestehend aus Aminosäuren und Hydroxycarbonsäuren als Ringbausteinen und mit 24 Ringatomen enthalten.
3. Verwendung von Piperazinen zusammen mit cyclischen Depsipeptiden bestehend aus Aminosäuren und Hydroxycarbonsäuren als Ringbausteinen und mit 24 Ringatomen zur Herstellung von endoparasitiziden Mitteln.

Endoparasitizide Mittel

Z u s a m m e n f a s s u n g

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Piperazinen zur Steigerung der endoparasitiziden Wirkung von cyclischen Depsipeptiden, bestehend aus Aminosäuren und Hydroxycarbonsäuren als Ringbausteinen und mit 24 Ringatomen in endoparasitiziden Mitteln,.